# Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen und Bakterizidiekinetik von Antibiotika in Pankreassekret

Maria Melita Schmitt

Frankfurt/M.

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523704_0036

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der
Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

# Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen und Bakterizidiekinetik von Antibiotika in Pankreassekret

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin des Fachbereiches Humanmedizin der
Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Maria Melita Schmitt
aus Dernbach / Westerwald

Frankfurt am Main 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Herr Prof. Dr. med. H. J. Müller

Referent : Frau Priv.-Doz. Dr. med. E. B. Helm

Korreferent: Herr Prof. Dr. med. H. Knothe

Tag der mündlichen Prüfung: 21.1.1983

An dieser Stelle möchte ich Frau Priv.-Doz. Dr. med. E. B. Helm für die Anregung zu dieser Arbeit, für die hilfreiche Unterstützung bei aufgetretenen Problemen und für die Durchsicht der Arbeit danken, sowie Herrn Prof. Dr. med. W. Stille für seinen jederzeit gewährten Rat.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. D. Wurbs, der mir das Pankreassekret zur Verfügung stellte und damit die Arbeit erst ermöglichte.

Inhaltsverzeichnis Seite

1. Einleitung 1

2. Material und Methode 3
2.1 Material
2.1.1. Pankreassekret 3
2.1.2. Nährmedien 4
2.1.3. Mikroorganismen 5
2.1.4. Antibiotika 5
2.2. Methode
2.2.1. Herstellung der Einsaat 5
2.2.2. Keimzahlbestimmung 6
2.2.3. Wachstumskurven (Transmissionsmessung) 7
2.2.4. Bakterizidiekinetik (Membranfiltration) 8
2.2.5. Inaktivierung von Pankreassekret durch Erhitzen 8
2.2.6. Anreichern von Pankreassekret mit Standard-I-Bouillon 9

3. Ergebnisse
3.1. Wachstumsversuche
3.1.1. Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen in Pankreassekret 10
( Trübungsmessung und Keimzahlbestimmung)
a) E.Coli 13
b) Klebsiella pneumonia 18
c) Proteus mirabilis 21
d) Pseudomonas aeruginosa 24
e) Staphylococcus aureus 27
f) Streptococcus faecalis 29

3.1.2. Wachstum von E.Coli und Klebsiella pneumonia in inaktiviertem und denaturiertem Pankreassekret 31
E.Coli in Charge P4 32
Klebsiella pneumonia in Charge P4 33
E.Coli in Charge P3 36
Klebsiella pneumonia in Charge P3 37
3.1.3. Wachstum von E.Coli und Klebsiella pneumonia in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret 39
E.Coli 39
Klebsiella pneumonia 41

3.2. Bakterizidiekinetik 46
a) Ampicillin 47
b) Mezlocillin 49
c) Cefotaxim 53
d) Cefoxitin 65
e) Gentamycin 69

4. Diskussion 74

5. Zusammenfassung 84

6. Literaturverzeichnis 87

## 1. Einleitung

Wachstumsgeschwindigkeit und Keimdichte von Bakterien sind in hohem Maße von der Zusammensetzung des Nährmediums abhängig.
Wie die Arbeit von Helm u. a. ( 18 ) zeigt, wachsen fakultativ pathogene Keime auch in Mangelmedien; in Liquor und Speichel, beides Medien mit wenigen Nährstoffen, wird z.B. innerhalb von 24 Stunden nur eine Trübung von 30 - 40% des Wertes in Bouillon erreicht. Die Keimzahl steigt von $10^5$ auf maximal $10^7$ - $10^8$ Keime pro ml.
Außer dem im Vergleich zu Bouillon verringerten Wachstum ist in Mangelmedien, wie in den oben genannten Körperflüssigkeiten, mit einer abweichenden Wirkung von Antibiotika zu rechnen. Der Grund dieses Phänomens ist in der Zusammensetzung und dem pH-Wert der Medien zu sehen. Auch in handelsüblichen Nährmedien können Antibiotika, in Abhängigkeit vom Ionen- und Nährstoffgehalt, eine unterschiedliche Aktivität haben.

Besonders groß ist die Wirkungsabhängigkeit vom Medium bei Aminoglycosiden und Tetracyclinen, während dies bei Betalaktam-Antibiotika nur in geringem Umfang der Fall ist. Dabei verhalten sich verschiedene Stämme einer Spezies gegen ein Antibiotikum bzw. eine Antibiotikagruppe gleich; zwischen den Spezies können allerdings erhebliche Unterschiede bestehen.
So wurde nachgewiesen, daß sich die MHK von Gentamycin und Tobramycin gegenüber Pseudomonas aeruginosa mit steigendem $Mg^{++}$ - und $Ca^{++}$- Gehalt des Mediums erhöht ( 44, 11, 17 ), während die Empfindlichkeit von E.Coli gegen Antibiotika durch diese Faktoren nur minimal beeinflußt wird ( 9 ).

Untersuchungen über das Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen und über die Wirksamkeit von Antibiotika in Pankreassekret, einem Mangelmedium ( 4, 7 ), liegen bislang nicht vor, da die Gewinnung von reinem humanen Pankreassekret vor der verbesserten ERCP-Technik ( 6, 23 ) Schwierigkeiten bereitete.

Primär bakterielle Infektionen des Pankreas sind kaum bekannt ( 5, 12, 14, 22 ). Trotzdem werden von vielen Autoren Antibiotika bei Erkrankungen dieses Organs bzw. zur Prophylaxe bei endoskopischen Untersuchungen und Operationen empfohlen ( 6, 13, 16, 27, 28, 36 ). Bakterielle Infektionen des Pankreas nach Oberbauchoperationen bzw. nach Füllen einer Cyste anläßlich einer ERCP stellen ebenfalls eine Gefährdung für den Patienten dar ( 3, 5, 8, 20, 34, 36, 38 ).

In der vorliegenden Studie wird untersucht, inwieweit sich Bakterien in Pankreassekret vermehren können, und wie Antibiotika in dieser Körperflüssigkeit gegenüber fakultativ pathogenen Keimen wirken. Hierzu wurde Pankreassekret mit folgenden fakultativ pathogenen Keimen ( E.Coli, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabilis , Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis ) beimpft, die Keimzahlvermehrung durch Trübungsmessung registriert und die Keimzahl bestimmt.

Ferner wurden Wachstumsversuche von E.Coli und Klebsiella pneumonia in inaktiviertem bzw. denaturiertem sowie in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret durchgeführt.

Weiterhin wurde die Wirksamkeit von Antibiotika in verschiedenen Pankreassekretproben ( soweit vorhanden ) untersucht.

## 2.1 Material und Methode

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Pankreassekret

Das Pankreassekret wurde während einer ERCP, welche aus diagnostischen Gründen durchgeführt wurde, entnommen. In die Sekretentnahme hatten die Patienten eingewilligt. Zur Stimulation der exokrinen Pankreasfunktion erhielten sie 1E Sekretin und 1E Cholecystokinin (Firma Boots) pro kg Körpergewicht und Stunde. Ein ERCP-Katheter (Olympus $FB_2$ ) mit einer zentralen Öffnung und mehreren seitlichen Bohrungen wurde unter Röntgenkontrolle in den Ductus Wirsungianius eingeführt.

Über 20 Minuten wurde durchschnittlich 100 ml unvermischtes Pankreassekret gewonnen. Es wurde nur Sekret von pankreasgesunden Personen verwendet. Bei Vorliegen einer Pankreaserkrankung wurde das Sekret verworfen.
Keine der Personen nahm zum Zeitpunkt und bis eine Woche vor der Untersuchung Antibiotika oder Chemotherapeutika.

Die Proben wurden auf Keimfreiheit und mögliche Kontamination mit Antibiotika überprüft. Das sterile Pankreassekret wurde in Portionen von 20 ml fraktioniert und bis zu Versuchsbeginn bei $-18^{\circ}C$ tiefgefroren. Die kontaminierten Proben P2 und P3 wurden mit Membranfiltern ( Sartorius-Milliporenfilter, Porengröße 0,2 µm, Ø 50 mm, Nr. 1140 ) sterilfiltriert und anschließend ebenfalls in Portionen tiefgefroren.

Der pH-Wert der Proben lag, bei Versuchsbeginn gemessen, zwischen pH 9,0 und pH 9,5. Insgesamt standen von fünf Patienten Proben - P1 bis P5 - von 50 bis 100 ml zur Verfügung. Die Pankreassekretproben wurden über einen Zeitraum von ca. 8 Monaten gesammelt. Aus diesem Grund wurde kein Pool gebildet, sondern die Proben nacheinander verarbeitet.

2.1.2. Nährmedien

Die Untersuchungen wurden, mit Ausnahme der Trübungs- ( Wachstums- ) messungen, gleichzeitig in Pankreassekret und einem Vergleichsmedium durchgeführt. Als Vergleichsmedien dienten:

a) physiologische Kochsalzlösung
   für die Keimzahlbestimmung
b) Antibiotic-Medium-3, $ABM_3$ ( Difco )
   Müller-Hinton-Bouillon
   zur Untersuchung der antibakteriellen Wirkung von Antibiotika
c) Standard-I-Bouillon ( Merck )
   für den Vergleich der Trübungszunahme in folgendem Versuchsansatz:
   1. Pankreassekret
   2. Bouillon
   3. mit konzentrierter Bouillon angereichertes Pankreassekret

### 2.1.3. Mikroorganismen

Als Testkeime dienten fakultativ pathogene Keime:
E.Coli, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis.
Sämtliche Stämme wurden im Infektionslabor der Universitätsklinik Frankfurt a.M. aus Untersuchungsmaterial von Patienten isoliert.

### 2.1.4. Antibiotika

Die Antibiotika wurden in Pufferlösung gelöst. Von den einzelnen Substanzen wurden Stammlösungen von $10^4$ mcg/ml hergestellt und bei $-18^{\circ}C$ aufbewahrt. Die Endverdünnung erfolgte in Pankreassekret bzw. in Bouillon.
Die Wirksamkeit folgender Antibiotika ( Ampicillin, Mezlocillin, Cefotaxim, Cefoxitin und Gentamycin ) wurde in Pankreassekret und Bouillon gegenüber E.Coli und Klebsiella pneumonia untersucht.

## 2.2. Methode

### 2.2.1. Herstellung der Einsaat

Zur Herstellung der Einsaat wurde eine Einzelkolonie einer 18 Stunden alten Kultur des jeweiligen Erregers

in NaCl aufgeschwemmt und die Trübung im Eppendorf-Photometer ( Filter Hg 546 ) auf Transmission 90 eingestellt. Dieser Trübung entspricht eine Keimzahl von $10^7$ Keimen pro ml.
In dem jeweiligen Medium ( Pankreassekret, Bouillon, physiologische Kochsalzlösung ) wurde diese Einsaat 1:100 verdünnt, so daß die Ausgangskeimzahl $10^5$ Keime pro ml betrug.

2.2.2. Keimzahlbestimmung

Die Versuche wurden gleichzeitig in Pankreassekret und physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt. Die Ausgangskeimzahl war jeweils $10^5$ Keime pro ml. Unmittelbar nach dem Beimpfen, sowie nach 2, 4 und 24 Stunden wurde dem Versuchsansatz 0,1 ml entnommen und eine Verdünnungsreihe hergestellt. Jeweils 0,1ml der einzelnen Verdünnungsstufen wurden auf Agarplatten gegeben und mit dem Drigalski-Glasspatel ausgestrichen. Der Anteil der am Spatel bleibenden Mikroorganismen kann vernachlässigt werden ( 31 ).

Die Teströhrchen wurden bei 37°C im Brutschrank bebrütet. Der pH-Wert wurde unmittelbar vor Versuchsbeginn überprüft.
Gram-negative Keime wurden auf EMB-Platten, Staphylococcus aureus auf DST-Platten und Streptococcus faecalis auf Blutplatten ausgestrichen und ca. 24 Stunden bebrütet. Anschließend wurden die Oberflächenkolonien

gezählt und die Keimzahl durch Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor ermittelt.
In der graphischen Darstellung entspricht die Einsaat 100%. Die Zahl der überlebenden Keime wurde in Prozent der Einsaat angegeben.

2.2.3. Wachstumskurven ( Transmissionsmessung )

Die Zunahme der Trübung, als Ausdruck des Keimwachstums, wurde kontinuierlich über mindestens 24 Stunden mit dem Photometer Eppendorf ( Filter Hg 546 ) automatisch registriert. Mit diesem war ein automatischer Küvettenwechsler und ein Schreibgerät gekoppelt. Der Küvettenwechsler war so eingestellt, daß nach 12 Sekunden die nächste Probe gemessen wurde. Eine ausreichende Durchmischung der Proben vor jeder Messung war so nicht gegeben. Sedimentationseffekte sind nicht auszuschließen ( siehe die Trübungsabnahme zu Beginn der Messungen ) .
Ein Wasserbad sorgte für die gleichbleibende Temperatur des Pankreassekretes von 37°C. Die sterilen Mikroküvetten hatten ein Volumen von 1,7 ccm. Diese Mikroküvetten waren optisch verschieden dicht. Für eine Probe, meist die unbeimpfte Pankreassekretprobe, wurde als Ausgangswert der Trübung der Wert 0 eingestellt.
Durch die unbeimpfte Pankreassekretprobe bestand eine Sterilitäts- und Spontantrübungskontrolle. Zu Versuchsbeginn und zu Versuchsende wurde jeweils die Keimzahl bestimmt.

2.2.4. Bakterizidiekinetik ( Membranfiltration )

Die Kinetik der Bakterizidie von Antibiotika gegen E.Coli und Klebsiella pneumonia in Bouillon und Pankreassekret wurde mittels Membranfiltration bestimmt. Die Einsaat betrug $10^5$ Keime pro ml. Die Konzentrationen der verschiedenen Antibiotika sind der Darstellung der Versuchsergebnisse zu entnehmen.

Neben der Untersuchung der Bakterizidie in Bouillon und Pankreassekret wurde in der gleichen Pankreassekretprobe eine Wachstumskontrolle durchgeführt. Unmittelbar nach Zugabe des jeweiligen Antibiotikums, sowie nach 1,2,4,6 und 24 Stunden wurden Proben entnommen und die Keimzahl mittels Membranfiltration (Sartorius Membranfilter, Ø 50 mm, Porengröße 0,2 µm Nr. 1140 ) bestimmt. ( 31 )

In der Darstellung entspricht die Einsaat 100%. Die Zahl der überlebenden Keime wurde in Prozent der Einsaat angegeben.

2.2.5. Inaktivierung von Pankreassekret durch Erhitzen

Um zu prüfen, ob Pankreassekret nur ein Mangelmedium ist oder Hemmstoffe enthält wurde das Keimwachstum in folgendem Versuchsansatz verglichen:

a) unverändertes Pankreassekret
b) inaktiviertes Pankreassekret ( über 30 Min auf 56°C erwärmt )
c) denaturiertes Pankreassekret ( über 15 Min bei 100°C gekocht )

Der pH-Wert wurde weder durch Inkubieren noch durch Kochen verändert. Als Kontrolle diente das Verhalten von Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung.

2.2.6. Anreichern von Pankreassekret mit Standard-I-Bouillon

Zur weiteren Abklärung dieser Frage wurde die Trübungszunahme in folgendem Versuchsansatz verglichen:

a) unverändertes Pankreassekret
b) Standard-I-Bouillon
c) mit zehnfach konzentrierter Standard-I-Bouillon angereichertes Pankreassekret.

( Die Proben b und c enthalten die gleiche Menge an Bouillontrockenmasse. )

Die Pankreassekretproben wurden mit E.Coli bzw. Klebsiella pneumonia beimpft. Die Trübungsmessung im Photometer Eppendorf erfolgte kontinuierlich über sieben Stunden. ( Methode: siehe unter 2.2.3. )

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Wachstumsversuche

#### 3.1.1. Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen in Pankreassekret ( Trübungsmessungen und Keimzahlbestimmungen )

Das Wachstumsverhalten von Bakterien in Pankreassekret wurde sowohl durch Trübungsmessungen als auch durch Keimzahlbestimmungen über 24 Stunden ermittelt.

Der Trübung entspricht die Mikroorganismenmasse. Diese ist gleich der Keimzahl mal Volumen der einzelnen Bakterien.
Die Keimzahl gibt Auskunft über die Mikroorganismenzahl pro Volumen, welche nach Bebrütung unter bestimmten Bedingungen nach einer bestimmten Zeit zu erkennen sind. Dabei bleibt eine Zunahme der Masse der einzelnen Bakterien unberücksichtigt. ( 31 )
Während die Trübungskurven den Wachstumsverlauf kontinuierlich widergeben, wurde die Keimzahl in Intervallen bestimmt.

Den Verlauf einer Trübungskurve kann man in folgende Abschnitte gliedern: Ruhe-, Latenz- oder Lag-Phase, logarithmische bzw. exponentielle Phase, stationäre Phase und Absterbphase.
Das Gesamtwachstum und damit die erreichte maximale Trübung wird durch eine der drei folgenden Situationen limitiert:

1. Ein oder mehrere Nährstoffe sind verbraucht.
2. Es hat sich ein ungünstiges Ionengleichgewicht ( z.B. pH ) entwickelt.
3. Toxische Produkte haben sich angereichert.

Die Ruhe-, Latenz- oder Lag-Phase ist die Periode, in der sich die Zellen an ein neues Milieu adaptieren und zu wachsen beginnen. Eine Zunahme der Keimzahl in dieser Phase bis $10^5$ Keime pro ml wird durch Trübungsmessungen im Eppendorf-Photometer nicht erfaßt.
Die exponentielle Phase ist, falls keine toxischen Stoffwechselprodukte vorhanden sind, eine Funktion der Konzentration des limitierenden Nährstoffes. ( 24 )

Nicht nur die maximale Trübung, sondern auch die Vermehrungsgeschwindigkeit der Keime sind wichtige Parameter zur Beurteilung des Wachstumsverhaltens.
Um die Wachstumsgeschwindigkeit der Keime zu vergleichen, wurde der Kurvenanstieg ( m ) in der exponentiellen Phase berechnet. m gibt die Trübungszunahme pro Zeit an, ist also ein direktes Maß für die Wachstumsgeschwindigkeit. Die Größe der Steigung ( m ) und damit auch des Steigungswinkels ( $\alpha$ ) hängt ebenso wie die Länge der Lag-Phase vom Nährstoffangebot des Mediums ab. ( 24 )

Bei ansonst gleichen Versuchsbedingungen verläuft in einem Medium mit guten Wachstumsbedingungen die Trübungskurve während der logarithmischen Phase steiler, damit sind sowohl m als auch $\alpha$ größer, als in einem Medium mit schlechten Wachstumsbedingungen. ( 30 )

Berechnung des Kurvenanstieges ( m ):

Durch die Trübungskurve wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate ( 2 ) eine Ausgleichsgerade gelegt. Diese Gerade wird durch die Gleichung:

$$y = mx + b$$

beschrieben.

x = gemessene Zeit = t (h)
y = gemessene Trübung
b = Schnittpunkt der Kurve zum Zeitpunkt t = 0 mit der y-Achse
m = Anstieg der Geraden = $tg\alpha$

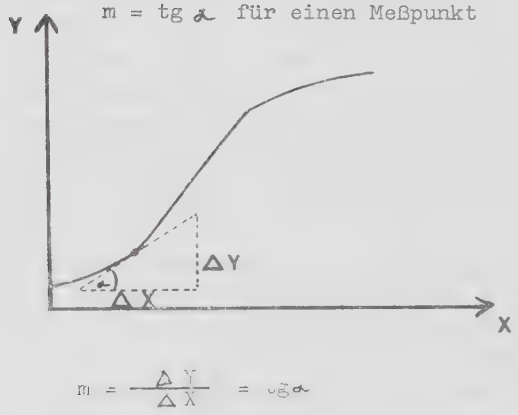
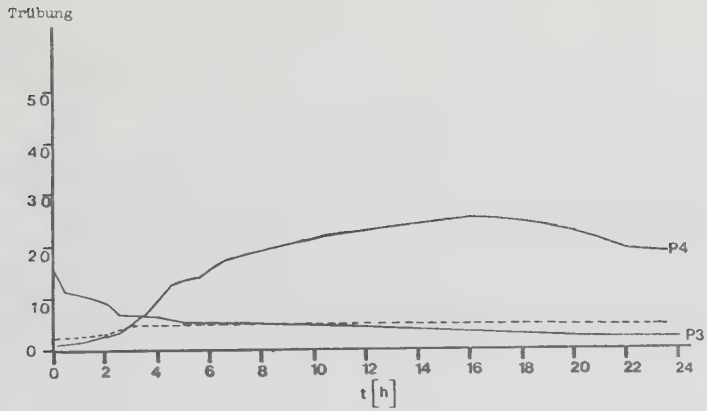



Abb. 1

Da m=tg $\alpha$ ist, läßt sich zu jedem m ein Steigungswinkel $\alpha$ berechnen. Der Anstieg der Geraden ( =m ) bzw. der Steigungswinkel ( $\alpha$ ) korrelieren mit der Wachstumsgeschwindigkeit. Diese läßt sich mit diesem Maß bei verschiedenen Keimen auf einen Blick vergleichen.

a) E.Coli




Trübungsmessung von E.Coli 6363 in zwei verschiedenen Pankreassekretproben - P3 (pH 9,0) und P4 (pH 9,5) -
beimpfte Pankreassekretprobe :————
unbeimpfte Pankreassekretprobe : entspricht der X-Achse,
bzw. : — — — — —
Einsaat: $2 \times 10^5 - 2{,}6 \times 10^5$
Methode: Trübungsmessung mit dem Photometer Eppendorf

Abb. 2

Trübungsmessung ( Abb. 2 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | Kurven-anstieg m | Steigungs-winkel $\alpha$ |
|---|---|---|---|---|
| P4 | $2,6 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^7$ | 2,26 | 66,13° |
| P3 | $2,0 \times 10^5$ | 0 | -0,41 | -22,29° |

Das Wachstumsverhalten von E.Coli ist in den Chargen P3 und P4 unterschiedlich. ( vergl. Abb. 2 ) Während E.Coli in Pankreassekretcharge P4 wächst, nimmt die Trübung in Charge P3 ab. Das Ausmaß der Trübungsabnahme zu Versuchsbeginn beruht sowohl auf Sedimentation als auch auf der wachstumshemmenden Wirkung der Pankreassekretcharge. Nach 24 Stunden ist die Keimzahl auf 0 Keime pro ml gesunken.

In Charge P4 erfolgt nach einer kurzen Latenzphase in der logarithmischen Vermehrungsphase ein relativ steiler Kurvenanstieg ( m = 2,26 ). Die Trübung steigt um maximal 24 Teilstriche der Trübungsskala. Nach 16 Stunden sinkt sie auch in dieser Charge .

( Eine Trübungszunahme von einem Teilstrich der Trübungsskala entspricht einer Zunahme des absorbierten Lichtes von 1%, bzw. einer Transmissionsabnahme von 1%. )

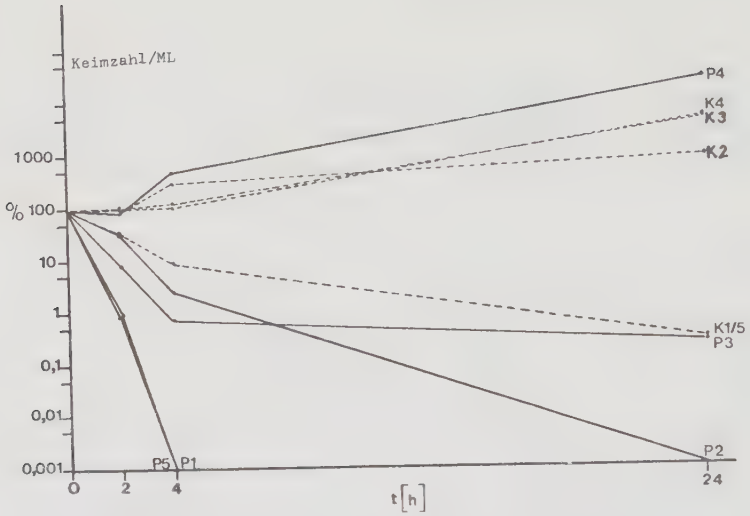
Keimzahlbestimmung ( Abb. 3 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | T99 in Minuten |
|---|---|---|---|
| P1 | $8{,}0 \times 10^4$ | 0 | 120 |
| P2 | $3{,}5 \times 10^5$ | 0 | 365 |
| P3 | $9{,}0 \times 10^4$ | $2{,}2 \times 10^2$ | 216 |
| P4 | $2{,}9 \times 10^5$ | $7{,}0 \times 10^7$ | - |
| P5 | $9{,}0 \times 10^4$ | 0 | 114 |

NaCl-Probe

| | | | |
|---|---|---|---|
| K1 / K5 | $6{,}8 \times 10^4$ | $2{,}0 \times 10^2$ | 996 |
| K2 | $3{,}6 \times 10^5$ | $2{,}9 \times 10^6$ | - |
| K3 | $1{,}8 \times 10^5$ | $7{,}7 \times 10^6$ | - |
| K4 | $2{,}0 \times 10^5$ | $8{,}8 \times 10^6$ | - |

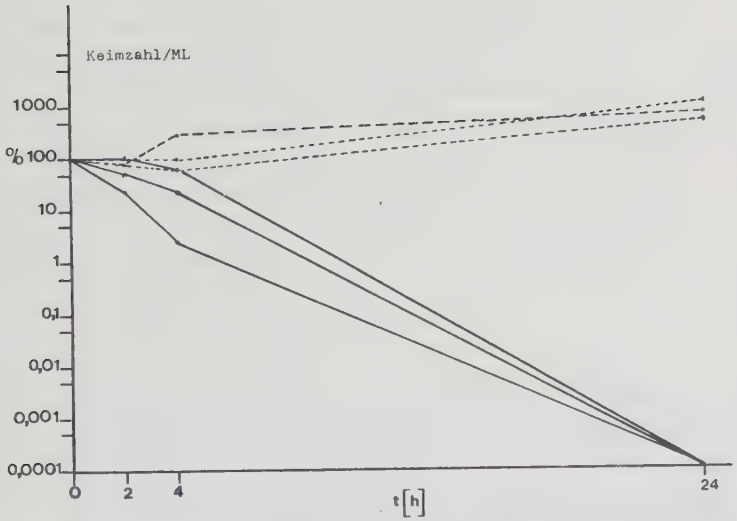
Da nur wenig Pankreassekret zur Verfügung stand, konnte von den Pankreassekretchargen P1 und P5 zu den jeweiligen Meßpunkten nur 0,1 ml entnommen werden. In den Chargen P2, P3 und P4 wurde die Keimzahl in 1 ml bestimmt.




Keimzahlbestimmung von E.Coli 6363 in 5 verschiedenen Pankreassekretproben P1 - P5 und in physiologischer Kochsalzlösung K1 - K5
Pankreassekret: ———— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 6,8 X $10^4$ - 3,6 X $10^5$ pH: 9,0 - 9,5
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 3

E.Coli zeigt in den einzelnen Pankreassekretchargen ein unterschiedliches Wachstumsverhalten. In allen Chargen - mit Außnahme von Charge P4 - nimmt die Keimzahl ab. In drei Pankreassekretchargen ( P1, P2, P5 ) sind nach 24 Stunden keine Keime mehr nachzuweisen, während in physiologischer Kochsalzlösung - einem Mangelmedium - die Keimzahl konstant bleibt oder leicht ansteigt ( vgl. Abb. 3 ).

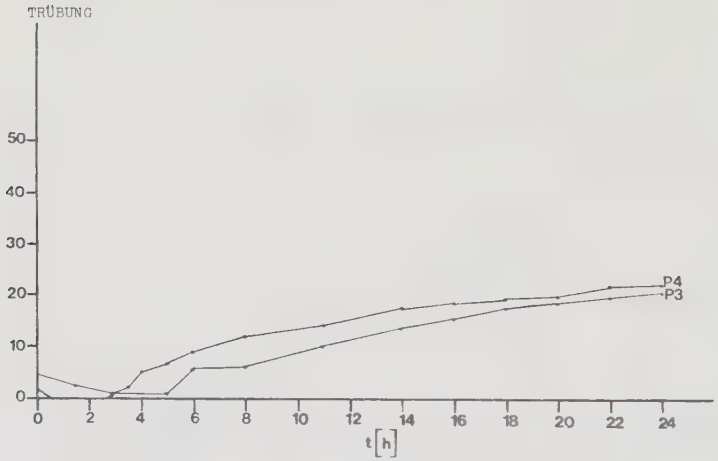



Keimzahlbestimmung von 3 verschiedenen E.Coli-Stämmen ( 6363, 1856, 1134 ) in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,0) und in physiologischer Kochsalzlösung
Pankreassekret: ———— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 2,7 X $10^5$ – 4,0 X $10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 4

Ein weiterer Versuch zeigt, daß die hemmende Wirkung auf E.Coli innerhalb der Spezies nicht stammspezifisch ist, sondern daß sich alle E.Colistämme in der jeweiligen Pankreassekretprobe gleich verhalten ( vgl. Abb. 4 ).

b) Klebsiella pneumonia



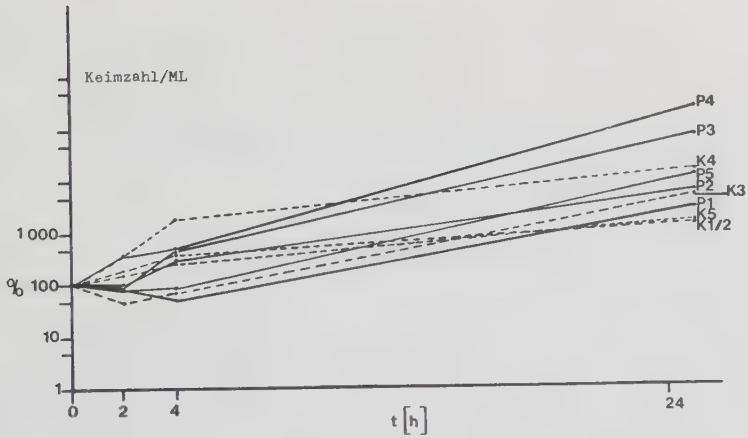

Trübungsmessung von Klebsiella pneumonia 5439 in zwei verschiedenen Pankreassekretproben - P3 (pH 9,0) und P4 (pH 9,5) - beimpfte Pankreassekretprobe: ———
unbeimpfte Pankreassekretprobe entspricht der X-Achse
Einsaat: 2 X $10^4$ - 5,5 X $10^5$
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 5

Trübungsmessung ( Abb. 5 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | Kurven-anstieg m | Steigungs-winkel $\alpha$ |
|---|---|---|---|---|
| P3 | 2,0 X $10^4$ | 6,0 X $10^7$ | 1,118 | 48,18° |
| P4 | 5,5 X $10^5$ | 3,0 X $10^8$ | 1,05 | 46,39° |

Klebsiella pneumonia wächst in beiden Pankreassekretchargen. Zu Versuchsbeginn nimmt die Trübung wahrscheinlich durch Sedimentation der Keime ab. Der Kurvenanstieg ( m = 1,118 ) erfolgt nach einer relativ langen Ruhephase . Nach 24 Stunden ist die stationäre Phase des Wachstums noch nicht erreicht. Die Trübungszunahme beträgt bis zu Versuchsende 20 Teilstriche der Trübungsskala (vgl. Abb. 5 ).




Keimzahlbestimmung von Klebsiella pneumonia 5439 in 5 verschiedenen Pankreassekretproben P1 - P5 und in physiologischer Kochsalzlösung K1 - K5
Pankreassekret: ——— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 1,5 X $10^5$ - 5,9 X $10^5$ pH: 9,0 - 9,5
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

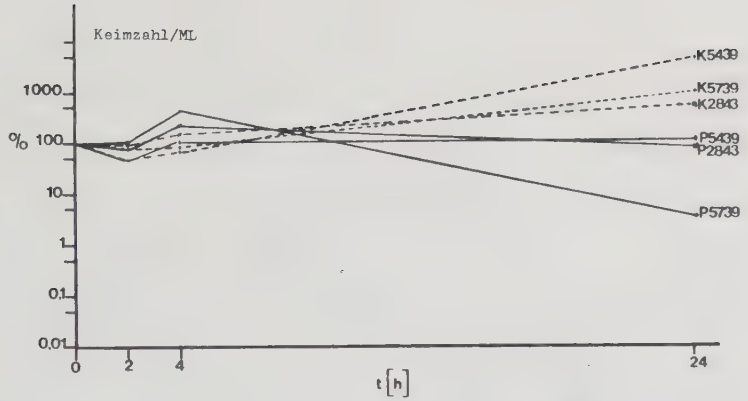
Abb. 6

Keimzahlbestimmung ( Abb. 6 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24h pro ml |
|---|---|---|
| P1 | $3,0 \times 10^5$ | $8,0 \times 10^6$ |
| P2 | $2,8 \times 10^5$ | $1,6 \times 10^7$ |
| P3 | $5,8 \times 10^5$ | $4,0 \times 10^8$ |
| P4 | $2,0 \times 10^5$ | $2,4 \times 10^7$ |
| P5 | $1,5 \times 10^5$ | $3,5 \times 10^8$ |

Klebsiella pneumonia wächst in allen Pankreassekretproben besser als in physiologischer Kochsalzlösung. Es werden Keimzahlen zwischen $10^6$ und $10^8$ Keime pro ml erreicht; dieses entspricht der $2,5 \times 10^1$ bis $2,0 \times 10^3$fachen Ausgangskeimzahl ( vgl. Abb. 6 ).

Bei der Keimzahlbestimmung dreier verschiedener Klebsiellenstämme in einer Pankreassekretprobe zeigt sich, daß das Wachstumsverhalten der verschiedenen Stämme unterschiedlich ist ( vgl. Abb. 7 ).



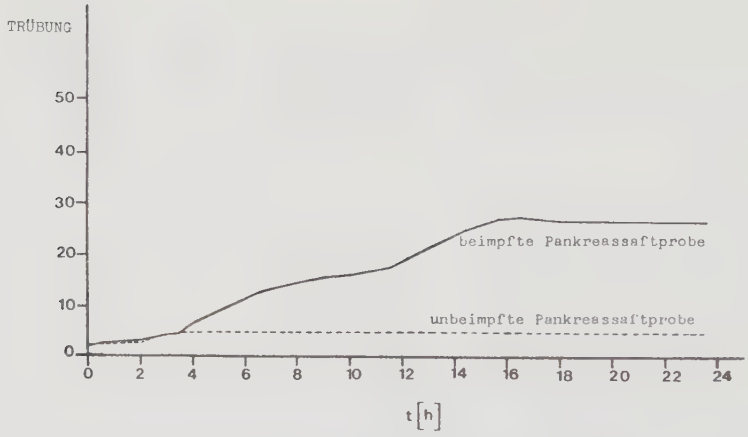

Keimzahlbestimmung von 3 verschiedenen Klebsiellen-Stämmen ( 5439, 2843, 5739 ) in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,0) und in physiologischer Kochsalzlösung K
Pankreassekret ( P ): ———— Kochsalzlösung ( K ): — — —
Einsaat: $5{,}9 \times 10^5 - 1{,}6 \times 10^6$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 7

c) Proteus mirabilis

In beiden getesteten Pankreassekretchargen, P3 ( Abb. 9 ) und P4 ( Abb. 8 ), wächst Proteus mirabilis relativ gut.

In Pankreassekret der Charge P4 folgt auf eine vergleichsweise kurze Ruhephase eine lange exponentielle Phase. Der Anstieg der Trübungskurve ist in dieser Phase nur gering ( m=1,46 ). Die erreichte Maximaltrübung beträgt 25 Teilstriche der Trübungsskala.
Die Keimzahl nach 24 Stunden entspricht in etwa der $1{,}0 \times 10^2$ bis $1{,}5 \times 10^3$fachen Ausgangskeimzahl.

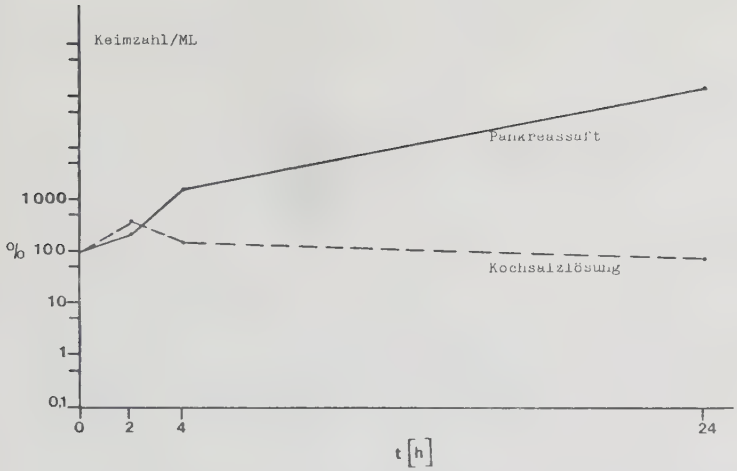



Trübungsmessung von Proteus mirabilis 3933 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5)
beimpfte Pankreassekretprobe: ————
unbeimpfte Pankreassekretprobe: — — — —
Einsaat: $7{,}0 \times 10^5$
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 8

Trübungsmessung ( Abb. 8 )

| Pankreassekretcharge | Ausgangskeimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | Kurvenanstieg m | Steigungswinkel $\alpha$ |
|---|---|---|---|---|
| P4 | $7{,}7 \times 10^5$ | $7{,}7 \times 10^7$ | 1,46 | 55,59° |



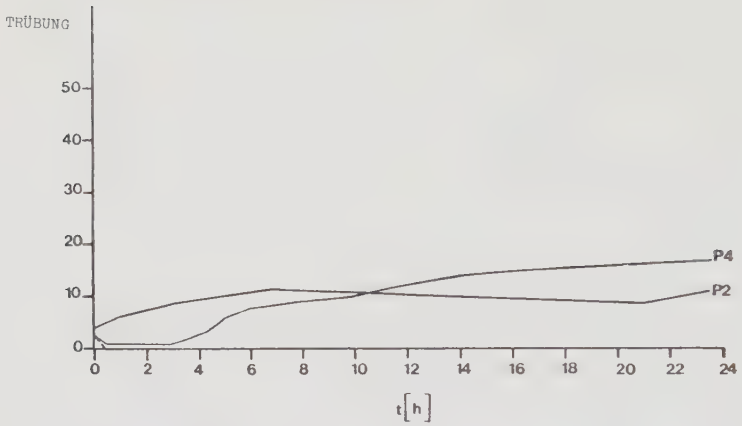

Keimzahlbestimmung von Proteus mirabilis 3933 in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0) und in physiologischer Kochsalzlösung K
Pankreassekret: ——— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 7 X $10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Membranfiltration

Abb. 9

Keimzahlbestimmung ( Abb. 9 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml |
|---|---|---|
| P3 | 7,0 X $10^5$ | 1,1 X $10^9$ |
| NaCl | 7,0 X $10^5$ | 5,0 X $10^5$ |

d) Pseudomonas aeruginosa




Trübungsmessung von Pseudomonas aeruginosa in zwei verschiedenen Pankreassekretproben - P2 (pH 9,5) und P4 (pH 9,5) -
beimpfte Pankreassekretprobe: ————
unbeimpfte Pankreassekretprobe entspricht der X-Achse
Einsaat: 1 X $10^4$ - 5 X $10^5$
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 10

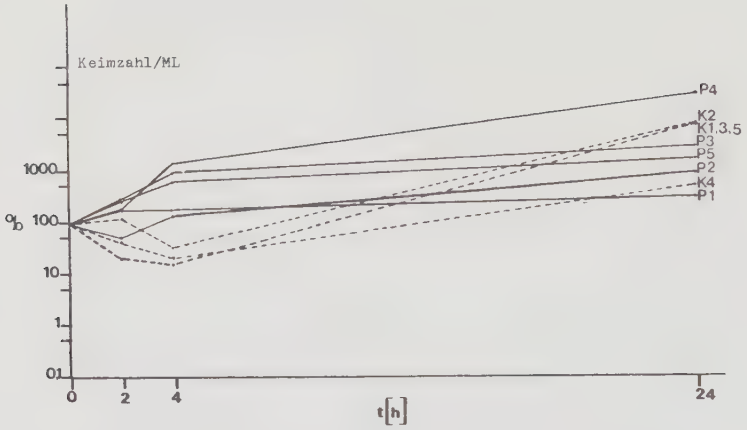
Trübungsmessung ( Abb. 10 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | Kurven-anstieg m | Steigungs-winkel $\alpha$ |
|---|---|---|---|---|
| P2 | 1,0 X $10^4$ | 1,0 X $10^5$ | 0,89 | 41,76° |
| P4 | 5,0 X $10^5$ | 3,0 X $10^8$ | 0,777 | 37,84° |

In Pankreassekretcharge P2 setzt das Keimwachstum ohne Verzögerung ein. Der Kurvenverlauf ist in der logarithmischen Vermehrungsphase auffallend flach. Innerhalb der ersten 6 Stunden wird die Maximaltrübung von 12 Teilstrichen der Trübungsskala ( Steigerung um 8 Teilstriche ) erreicht. Die Keimzahl nimmt um eine Zehnerpotenz in 24 Stunden zu.
In Charge P4 setzt das exponentielle Wachstum mit einer Verzögerung von 3 Stunden ein. Auch hier ist der Kurvenanstieg ( die Wachstumsgeschwindigkeit ) gering. Die Wachstumskurve steigt bis zum Versuchsende nach 24 Stunden. Bis zu diesem Zeitpunkt beträgt die Trübungssteigerung 15 Einheiten der Trübungsskala; die Keimzahl nimmt um den Faktor 600 zu ( vgl. Abb. 10 ).

Keimzahlbestimmung ( Abb. 11 )

| Pankreassekretcharge | Ausgangskeimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml |
|---|---|---|
| P1 | $2,2 \times 10^5$ | $6,7 \times 10^5$ |
| P2 | $4,0 \times 10^5$ | $3,6 \times 10^6$ |
| P3 | $1,8 \times 10^5$ | $5,0 \times 10^6$ |
| P4 | $8,7 \times 10^5$ | $2,4 \times 10^8$ |
| P5 | $2,0 \times 10^5$ | $3,3 \times 10^6$ |

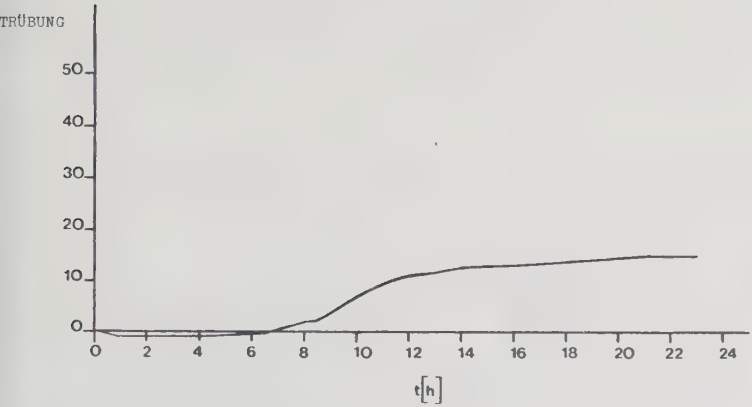



Keimzahlbestimmung von Pseudomonas aeruginosa in 5 verschiedenen Pankreassekretproben - P1 - P5 - und in physiologischer Kochsalzlösung - K1 - K5 -
Pankreassekret: ———— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 1,1 X $10^5$ - 8,7 X $10^5$ pH: 9,0 - 9,5
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 11

Die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen stimmen mit denen der Trübungsmessungen überein.
Während die Keimzahl in den Pankreassekretchargen P1, P2, P3 und P5 gleich bleibt oder nur um eine Zehnerpotenz zunimmt, steigt sie in der Charge P4 um das 280fache an ( vgl. Abb. 11 ).

e) Staphylococcus aureus




Trübungsmessung von Staphylococcus aureus 4595 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5)
beimpfte Pankreassekretprobe: ————
unbeimpfte Pankreassekretprobe entspricht der X-Achse
Einsaat: 1 X $10^6$
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 12

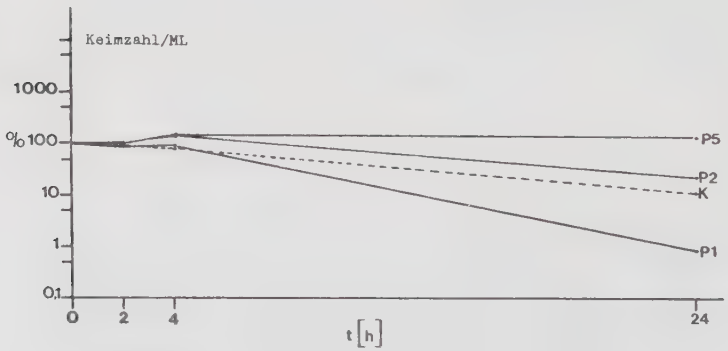
Trübungsmessung ( Abb. 12 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml | Kurven-anstieg m | Steigungs-winkel $\alpha$ |
|---|---|---|---|---|
| P4 | 1,0 X $10^6$ | 2,3 X $10^8$ | 2,22 | 65,74° |

Nach einer auffallend langen Ruhephase sieht man in der exponentiellen Wachstumsphase einen relativ steilen Kurvenanstieg ( m=2,22 ). Die Trübung nimmt in 24 Stunden um 16,5 Einheiten der Trübungsskala zu. Die Keimzahl steigt um das 2 X $10^2$fache ( vgl. Abb. 12 ).

Keimzahlbestimmung ( Abb. 13 )

| Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml |
|---|---|---|
| P1 | 1,2 X $10^6$ | 1,0 X $10^4$ |
| P2 | 5,0 X $10^5$ | 1,1 X $10^5$ |
| P5 | 6,4 X $10^5$ | 8,4 X $10^5$ |

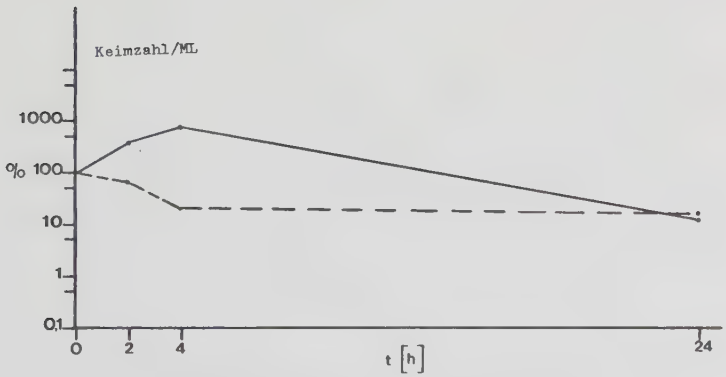



Keimzahlbestimmung von Staphylococcus aureus 4595 in drei verschiedenen Pankreassekretproben P1, P2, P5 und in physiologischer Kochsalzlösung K
Pankreassekret: ———— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 4,5 X $10^5$ - 1,2 X $10^6$ pH: 9,0 - 9,5
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 13

In den Pankreassekretchargen P1, P2, P5 verringert sich die Keimzahl in 24 Stunden um das $10^2$fache bzw. sie bleibt gleich ( vgl. Abb. 13 ).

f) Streptococcus faecalis




Keimzahlbestimmung von Streptococcus faecalis in einer Pankreassekretprobe P5 (pH 9,0) und in physiologischer Kochsalzlösung K
Pankreassekret: ——— Kochsalzlösung: — — — —
Einsaat: 7,4 X $10^4$ - 2,8 X $10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 14

| | Pankreas-sekret-charge | Ausgangs-keimzahl pro ml | Keimzahl nach 24 h pro ml |
|---|---|---|---|
| Trübungsmessung | P4 | $1,1 \times 10^6$ | $4,0 \times 10^7$ |
| Keimzahlbestimmung ( Abb. 14 ) | P5 | $2,8 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^4$ |

Bei der Trübungsmessung mit dem Photometer Eppendorf ist - trotz des durch Keimzahlbestimmung ermittelten Keimwachstums in Charge P4 - keine Trübungssteigerung festzustellen. Die Zunahme der Mikroorganismendichte ( Masse/Volumen ) ist offensichtlich zu gering, bzw. die Erreger sedimentieren zu stark, um ein Keimwachstum mit dieser Methode zu erfassen.

In Pankreassekret der Charge P5 nimmt die Keimzahl, nach dem sie in den ersten 4 Stunden gestiegen ist, wieder ab. Sie liegt nach 24 Stunden ca. eine Zehnerpotenz unter der Ausgangskeimzahl ( vgl. Abb. 14 ).

3.1.2. Wachstum von E.Coli und Klebsiella pneumonia in inaktiviertem und denaturiertem Pankreassekret
( Keimzahlbestimmung )

Untersucht wird, ob Pankreassekret nur ein Mangelmedium ist, oder ob es Hemmstoffe enthält.

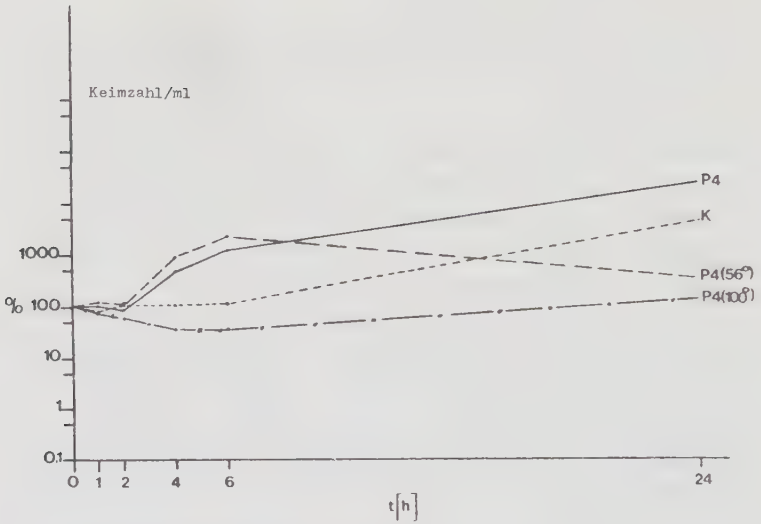
Pankreassekret der gleichen Charge wurde in drei Röhrchen pipettiert. Eine Probe wurde über 30 Minuten bei 56°C erhitzt, die zweite Probe 15 Minuten bei 100°C gekocht, die dritte Probe bis zu Versuchsbeginn tiefgefroren ( vgl. 2.2.5 )

Die Proben wurden gleichzeitig mit E.Coli ( Stamm Nr. 6363 ) und Klebsiella pneumonia ( Stamm Nr. 5439 ) beimpft und die Keimzahl über 24 Stunden ermittelt. Als Kontrolle diente das Keimwachstum in physiologischer Kochsalzlösung.

Trübungsmessungen konnten nicht durchgeführt werden, da das Pankreassekret durch Erhitzen eingetrübt war.

Dieser Versuch wurde sowohl mit einer Pankreassekretcharge durchgeführt in der fakultativ pathogene Keime gut wachsen ( Charge P4 ), als auch mit einer Pankreassekretcharge in der E.Coli bei den vorausgegangenen Versuchen abstarb ( Charge P3 ).

E.Coli in Charge P4 ( Abb. 15 )




Keimzahlbestimmung von E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5): ————
in einer 15 Min. bei 100°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — —
in einer 30 Min. bei 56°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — — —
in physiologischer Kochsalzlösung: ----------
Einsaat: 1,7 X $10^5$ - 2,9 X $10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 15

In nativem Pankreassekret der Charge P4 wächst E.Coli nach einer Verzögerung von ca. 2 Stunden gut. Hier erreicht E.Coli höhere Keimzahlen als in den anderen Versuchsansätzen.

Die Wachstumskurve von E.Coli in bei 56°C inaktiviertem Pankreassekret verläuft in den ersten 6 Stunden parallel zu der in nativem Pankreassekret. Die Keimzahl steigt von $2,4 \times 10^5$ auf $5,5 \times 10^6$ Keime pro ml. Nach 24 Stunden ist sie wieder auf $8,0 \times 10^5$ Keime pro ml gesunken.

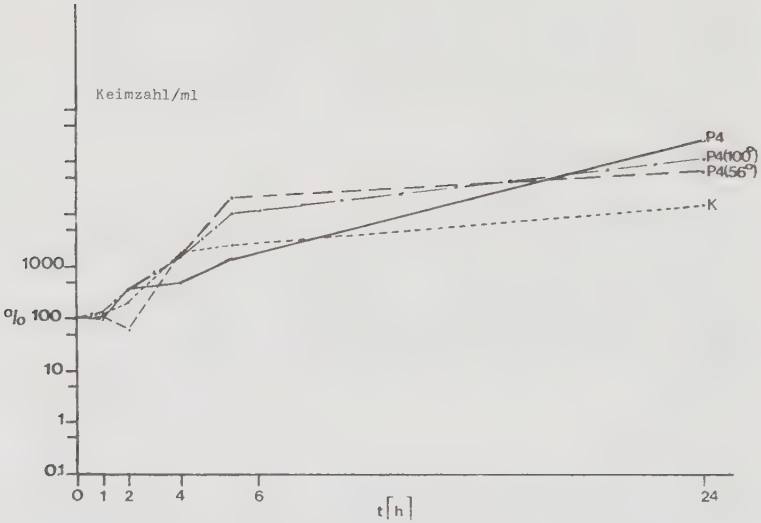
Dagegen ändert sich die Keimzahl von E.Coli in bei 100°C gekochtem Pankreassekret kaum. ( Einsaat: $1,6 \times 10^5$, Keimzahl nach 24 Stunden: $2,3 \times 10^5$ ) Bemerkenswert ist, daß die Keimzahl in den ersten 4 Stunden abnimmt ( auf $5,5 \times 10^4$ Keime pro ml ).

Klebsiella pneumonia in Charge P4 ( Abb. 16 )

Nach einer Verzögerung von 2 Stunden wächst Klebsiella pneumonia in der nativen Pankreassekretcharge gut. In dieser Charge wird die größte Keimzahl pro ml gemessen.

Die Keimzahl von Klebsiella pneumonia in bei 56°C inaktiviertem Pankreassekret liegt nach 6 Stunden etwas über der in den anderen Versuchsansätzen. Nach 24 Stunden ist sie aber geringer als in den beiden anderen Pankreassekretproben. Die Differenz zwischen den Proben ist allerdings nur gering.

In der bei 100°C denaturierten Pankreassekretcharge steigt die Keimzahl nach einer Verzögerung von ca 1 Stunde schnell an. Nach 24 Stunden ist etwa die $10^3$-fache Ausgangskonzentration erreicht.




Keimzahlbestimmung von Klebsiella pneumonia 5439
in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5): ————————
in einer 15 Min. bei 100°C erhitzten Pankreassekretprobe: — • — • —
in einer 30 Min. bei 56°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — — —
in physiologischer Kochsalzlösung: --------
Einsaat: $1{,}5 \times 10^5$ - $3{,}3 \times 10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 16

Zusammenfassend läßt sich folgendes sagen:
Die Keimzahlbestimmungen erfolgten über 24 Stunden, in den ersten 6 Stunden zweistündlich.
In nativem Pankreassekret wachsen die Mikroorganismen besser als in inaktiviertem bzw. denaturiertem Pankreassekret.

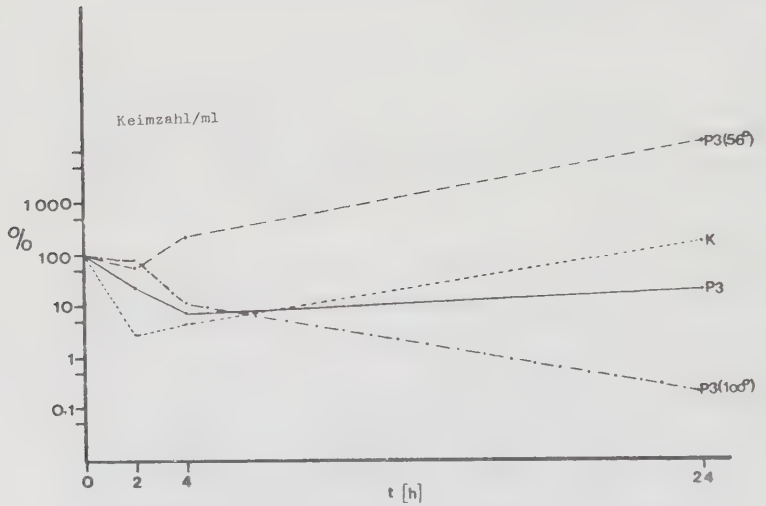
Auffallend ist das relativ starke Wachstum der Keime in bei 56°C inaktiviertem Pankreassekret innerhalb der ersten 6 Stunden. Dieses stärkere Wachstum läßt verschiedene Interpretationen zu; unter anderem ist zu vermuten, daß eine hemmende Wirkung auf die Mikroorganismen durch die Inaktivierung aufgehoben wurde.

In der denaturierten ( bei 100°C gekochten ) Pankreassekretcharge ist das Wachstumsverhalten für E.Coli und Klebsiella pneumonia unterschiedlich. Während sich die Keimzahl für E.Coli kaum ändert, wächst Klebsiella pneumonia relativ gut.
Vergleicht man die Keimzahlen nach 24 Stunden, so ist kein großer Wachstumsunterschied der Keime in inaktiviertem ( 56°C ) und denaturiertem ( 100°C ) Pankreassekret zu erkennen.

Enthielte Pankreassekret der Charge P4 hitzelabiele wachstumshemmende Stoffe, so müßte die Keimzahl in den erhitzten Chargen zu Versuchsende größer sein als in nativem Pankreassekret.
Zu beachten ist, daß für diesen Versuch eine Charge gewählt wurde, in der alle Keime in den vorangegangenen Versuchen gut wuchsen.
Pankreassekret der Charge P4 enthält demnach keine hitzelabielen Hemmstoffe.

E.Coli in Pankreassekretcharge P3 ( Abb. 17 )

Der gleiche Versuch wurde auch in einer Pankreassekretcharge durchgeführt, in der E.Coli in den vorhergehenden Versuchen abstarb.




Keimzahlbestimmung von E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0): ————————
in einer 15 Min. bei 100°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — —
in einer 30 Min. bei 56°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — — —
in physiologischer Kochsalzlösung: ----------
Einsaat: 1,3 X $10^5$ - 7,0 X $10^5$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 17

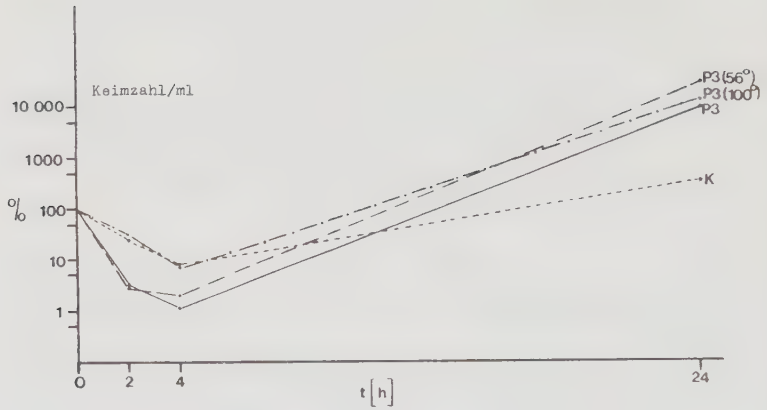
In bei 100°C gekochtem Pankreassekret der Charge P3 sinkt die Keimzahl von E.Coli innerhalb von 24 Stunden um drei Zehnerpotenzen.
In nativem Pankreassekret dieser Charge beträgt sie zu diesem Zeitpunkt 22 Prozent der Ausgangskeimzahl.
In bei 56°C inaktiviertem Pankreassekret steigt sie um zwei Zehnerpotenzen. (vgl. Abb. 17 )

Vergleicht man das Wachstum von E.Coli in beiden Pankreassekretchargen - P3 und P4 - ,so findet sich folgenes:
Die jeweils geringste Keimzahl innerhalb des betreffenden Versuchs mißt man in bei 100°C gekochtem Pankreassekret beider Chargen ( P3 und P4 ).
Hingegen wächst in beiden bei 56°C inaktivierten Pankreassekretchargen E.Coli zu Versuchsbeginn besser als in unverändertem Pankreassekret. Während in Charge P4 die Keimzahl wieder abnimmt, steigt sie in Charge P3 weiter an.

Das ursprüngliche Wachstumsverhalten von E.Coli in beiden Pankreassekretchargen ( Keimwachstum in Charge P4 und Keimzahlabnahme in Charge P3 ) wird durch Erhitzen auf 56°C verändert. Nun wächst E.Coli in Charge P3 und stirbt dagegen in Charge P4 ab.

Klebsiella pneumonia in Pankreassekretcharge P3 ( Abb. 18 )

Wachstumsversuche wurden ebenfalls in erhitztem Pankreassekret der Charge P3 durchgeführt. In den vorhergehenden Versuchen wuchs Klebsiella pneumonia in beiden Chargen annähernd gleich gut.




Keimzahlbestimmung von Klebsiella pneumonia 5439
in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0): ————————
in einer 15 Min. bei 100°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — —
in einer 30 Min. bei 56°C erhitzten Pankreassekretprobe: — — — —
in physiologischer Kochsalzlösung: ----------
Einsaat: $3 \times 10^4$ - $1{,}1 \times 10^6$
Methode: Keimzahlbestimmung durch Ausspateln auf Agarplatten

Abb. 18

Klebsiella pneumonia wächst sowohl in nativem als auch in erhitztem Pankreassekret gleich gut. Die Keimzahl steigt innerhalb von 24 Stunden um den Faktor $9 \times 10^1$ ( in nativem Pankreassekret ) bis $2{,}7 \times 10^2$ ( in inaktiviertem Pankreassekret ).

Pankreassekret der Charge P3 enthält demnach Hemmstoffe gegen E.Coli, nicht aber Hemmstoffe gegen Klebsiella pneumonia.

### 3.1.3. Wachstum von E.Coli und Klebsiella pneumonia in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret ( Trübungsmessung )

Zur weiteren Klärung der Frage, ob Pankreassekret nur ein Mangelmedium ist, oder ob es auch Hemmstoffe enthält, wurde die Trübungszunahme von E.Coli und Klebsiella pneumonia in

a) unverändertem Pankreassekret ( P )
b) in Standard-I-Bouillon ( B ) und
c) in mit zehnfach konzentrierter Bouillon angereichertem Pankreassekret ( PB )

miteinander verglichen.

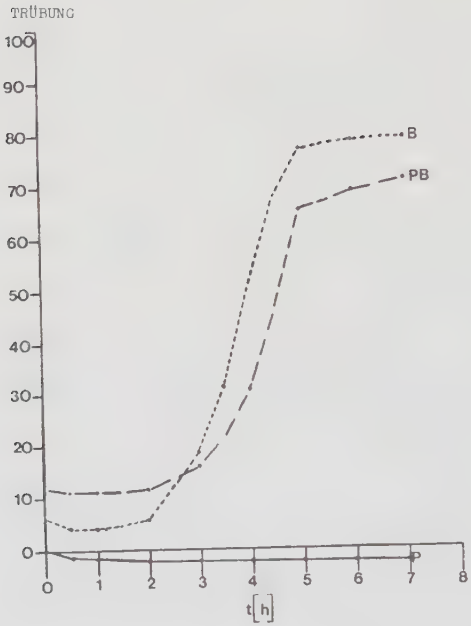
Versuchsdurchführung: vergl. 2.2.6.

Versuchsbedingungen:
Zu Versuchsbeginn wurde wegen der verschiedenen Farbintensitäten der Ansätze unterschiedliche Ausgangstrübungen gemessen.
Es wurde eine Pankreassekretcharge verwandt, in der E. Coli abstirbt und Klebsiella pneumonia nur mäßig wächst. ( vergl. 3.1.1. a und b ) .

a) E.Coli ( Abb. 19 )

Die Ausgangstrübung zu Versuchsbeginn lag in diesem Versuch zwischen 0 und 11,8 Einheiten der Trübungsskala.

Der Kurvenverlauf zeigt, daß E.Coli in unverändertem Pankreassekret der Charge P2 abstirbt.




Trübungsmessung von E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,5): ————————
in Standard-1-Bouillon B : ----------
sowie in Pankreassekret + Bouillon (10fach konzentriert) 9:1 PB: — —
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 19

In mit Bouillon angereichertem Pankreassekret hingegen wächst E.Coli nach 3 Stunden exponentiell. Nach 5 Stunden ist diese Phase beendet. Die Trübungszunahme beträgt bis zu diesem Zeitpunkt 53,7 Einheiten der Trübungsskala.

In Bouillon beginnt nach 2 Stunden die exponentielle Wachstumsphase; 5 Stunden nach Versuchsbeginn endet sie. Die Trübungszunahme beträgt bis zu diesem Zeitpunkt 71 Teilstriche der Trübungsskala.

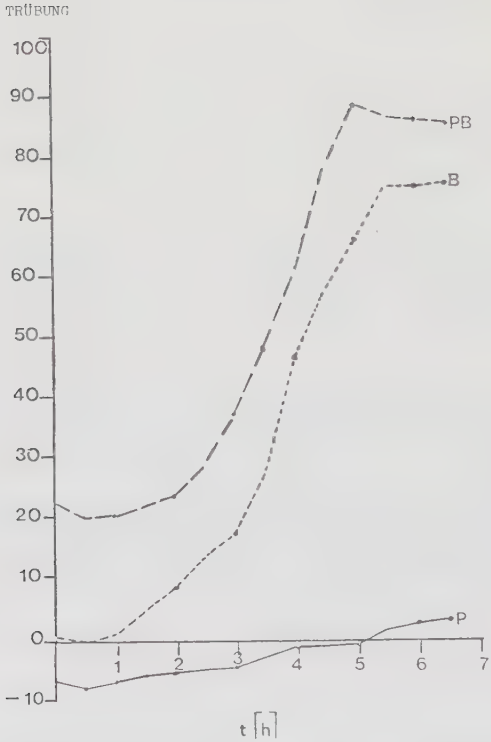
Bis zu Versuchsende nimmt die Trübung in Bouillon um maximal 73 und in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret um maximal 59,2 Teilstriche der Trübungsskala zu.

Die Wachstumsgeschwindigkeit ist in Bouillon und angereichertem Pankreassekret annähernd gleich groß. m beträgt in Bouillon 33,7 und $\alpha = 88,3$ ; in angereichertem Pankreassekret ist $m = 29,5$ und $\alpha = 88,06$.
( Berechnet wurde m aus dem Kurvenabschnitt, in dem die Trübung von 20 auf 80% der maximalen Trübung steigt. )

b) Klebsiella pneumonia ( Abb. 20 )

Die Ausgangstrübung lag zu Versuchsbeginn zwischen -7 und +22,5 Einheiten der Trübungsskala.

Klebsiella pneumonia wächst in der unveränderten Pankreassekretcharge langsam. Zu Versuchsende ( nach 6 1/2 Stunden ) ist die stationäre Phase des Wachstums noch




Trübungsmessung von Klebsiella pneumonia 5439
in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,5): ————————
in Standard-I-Bouillon B : ----------
in Pankreassekret + Bouillon (10fach konzentriert) 9:1 PB: — — —
Methode: Trübungsmessung mit Photometer Eppendorf

Abb. 20

nicht erreicht. Die Trübungszunahme beträgt 10,5 Teilstriche der Trübungsskala, die Wachstumsgeschwindigkeit ( m ) 2,25 , $\alpha$=66,03.

In der mit Bouillon angereicherten Pankreassekretcharge sieht man nach einer Ruhephase von ca. 1 Stunde ein exponentielles Wachstum. Nach 5 Stunden nimmt die Trübung wieder ab. Die maximale Trübungszunahme beträgt 66,5 Einheiten der Trübungsskala. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist m= 27,4 und $\alpha$=87,9.

In Bouillon wächst Klebsiella pneumonia nach ca. 30 Minuten exponentiell. Nach 5 1/2 Stunden steigt die Keimzahl nur noch leicht an. Die maximale Trübungssteigerung beträgt 75,25 Teilstriche der Trübungsskala, die Wachstumsgeschwindigkeit m=22,68 und $\alpha$=87,5.

c) Wertung der Versuche

E.Coli wächst nur in Bouillon und in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret der Charge P2,nicht aber in Pankreassekret ohne Zusatz von Nährstoffen.
Die Ruhephase ist in angereichertem Pankreassekret länger als in Bouillon. Auch nach dem die logarithmische Wachstumsphase beendet ist, nimmt die Trübung in Bouillon und in angereichertem Sekret weiter langsam zu.
In dem Versuchsansatz mit Bouillon verzeichnet man sowohl eine deutlich stärkere Trübungszunahme als auch eine geringfügig größere Wachstumsgeschwindigkeit als in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret.

Klebsiella pneumonia erreicht in der mit Bouillon angereicherten Pankreassekretcharge P2 höhere Trübungswerte als in unverändertem Pankreassekret. Die Trübungssteigerung ist aber geringer als in Bouillon.

In angereichertem Pankreassekret ist die Ruhephase länger als in Bouillon. Mit Ende der logarithmischen Wachstumsphase ist in Bouillon-Pankreasgemisch die maximale Trübung erreicht. Die Keimzahl nimmt anschliessend wieder ab. In Bouillon hingegen wächst Klebsiella pneumonia mit reduzierter Wachstumsgeschwindigkeit weiter.

Ähnlich wie bei E.Coli, ist die Wachstumsgeschwindigkeit in angereichertem Pankreassekret ( m = 27,4 $\alpha$ = 87,9 ) und Bouillon ( m = 22,68 $\alpha$ = 87,5 ) annähernd gleich groß.

Aus den Trübungsmessungen läßt sich folgendes schließen:

Falls Pankreassekret nur ein Mangelmedium wäre, dann wäre ein gleich gutes Wachstum in Bouillon und in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret zu erwarten. Falls es hemmend auf fakultativ pathogene Keime wirken würde, dann müßten die Bakterien in Bouillon besser wachsen als in angereichertem Pankreassekret.

E.Coli wächst aber in Bouillon-Pankreasgemisch schlechter als in Bouillon. Pankreassekret wirkt offentsichtlich hemmend auf E.Coli und ist nicht nur ein Mangelmedium.

Etwas weniger deutlich erscheint der Wachstumsunterschied zwischen Bouillon und angereichertem Pankreassekret bei Klebsiella pneumonia. Betrachtet man aber die Summe der Wachstumsparameter ( Trübungssteigerung, Länge der Ruhephase, Wachstumsgeschwindigkeit ) so findet sich auch bei Klebsiella pneumonia ein besseres Wachstum in Bouillon als in angereichertem Pankreassekret.
Demnach ist zu vermuten, daß Pankreassekret der Charge P2 auch für diesen Keim nicht nur Mangelmedium ist.

## 3.2. Bakterizidiekinetik

Untersucht wurde die Kinetik der Bakterizidie von Betalaktam-Antibiotika und Gentamycin in Pankreassekret und Nährbouillon auf E.Coli und Klebsiella pneumonia.

Folgende Antibiotika und Pankreassekretchargen kamen zur Anwendung:

a) Ampicillin in Pankreassekretcharge P3 (pH 9,0)
b) Mezlocillin in Pankreassekretcharge P4 (pH 9,5)
c) Cefotaxim in den Pankreassekretchargen P2 (pH 9,5), P3 (pH 9,0), P4 ( pH 9,5)
d) Cefoxitin in der Pankreassekretcharge P4 (pH 9,5)
e) Gentamycin in Pankreassekretcharge P3 (pH 9,0).

Die Versuche erfolgten gleichzeitig in Pankreassekret und Nährbouillon. Über 24 Stunden wurde die Keimzahl in unverändertem Pankreassekret ( ohne Antibiotikazusatz ), in Pankreassekret mit Antibiotika und in Nährbouillon mit Antibiotika verglichen.

Als Maß für die Bakterizidie der Antibiotika in den verschiedenen Versuchsansätzen wurde die Zeit bestimmt, in der die Keimzahl auf 1% der Ausgangskeimzahl sinkt = T99. Diese Zeitspanne - T99 - läßt sich graphisch ermitteln. Sie ist um so kleiner, je größer die bakterizide Wirkung ist ( 18 ).

Um das Ausmaß der Keimreduktion bei unterschiedlicher Einsaat aufzuzeigen, wurde neben der Prozentzahl auch die absolute Keimzahl zu Versuchsende angegeben.

Bei einigen Proben konnte wegen Materialmangel zu den einzelnen Meßpunkten nur jeweils 0,1 ml entnommen werden.

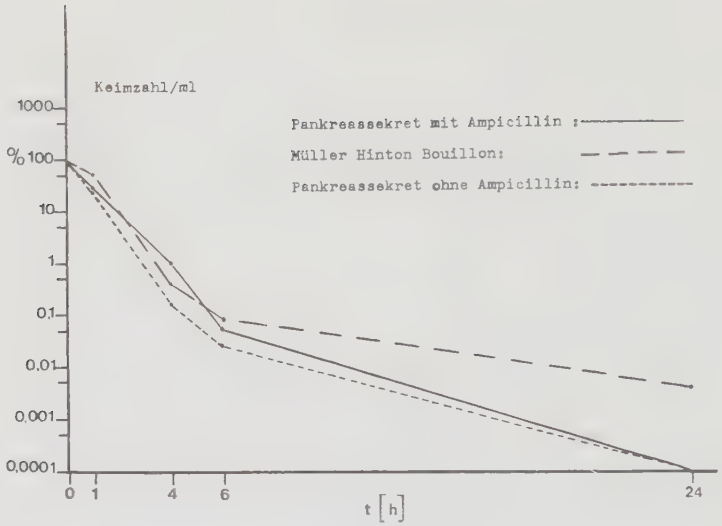
a) Ampicillin ( Abb. 21 )

Die Bakterizidiekinetik von 10 mcg/ml Ampicillin wurde in einer Pankreassekretcharge ermittelt, in welcher die Keimzahl von E.Coli in den vorhergehenden Versuchen abnahm ( P3 ).

In Pankreassekret mit und ohne Ampicillinzusatz kann man nach 24 Stunden in 1 ml keinen Keim mehr nachweisen. In Bouillon mit Ampicillin beträgt die Keimzahl zu diesem Zeitpunkt noch 8 Keime pro ml. In allen drei Versuchsansätzen werden innerhalb von 3 bis 4 Stunden 99% der Keime abgetötet.

Die stärkste keimhemmende Wirkung hat Pankreassekret ohne Ampicillin ( T99 = 174 Min ) gefolgt von Bouillon ( T99 = 210 ). Die schwächste antibakterielle Wirkung innerhalb der ersten 4 Stunden zeigt Pankreassekret mit Ampicillin ( T99 nach 24 h ).
Vergleicht man die Keimreduktion innerhalb von 24 Stunden, so ist sie in Pankreassekret mit und ohne Ampicillin- größer, als in Bouillon.

Die natürliche antibakterielle Wirkung von Pankreas der Charge P3 wird durch Ampicillinzugabe nicht erhöht. Im Gegenteil, die antibakterielle Aktivität wird sogar geringfügig gemindert.




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegen E.Coli 6363 in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0) :———— in Müller Hinton Bouillon:— — — — . Pankreassekret ohne Ampicillin:------- Einsaat: 1,2 X $10^5$ - 2,2 X $10^5$ Methode: Membranfiltration gemessen ab: $10^0$

| | Pankreassekret ohne Ampicillin | Pankreassekret mit Ampicillin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | 174 | 240 | 210 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 0 | 0 | 8 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $< 10^4$ | $< 10^4$ | 4 X $10^3$ |

Abb. 21

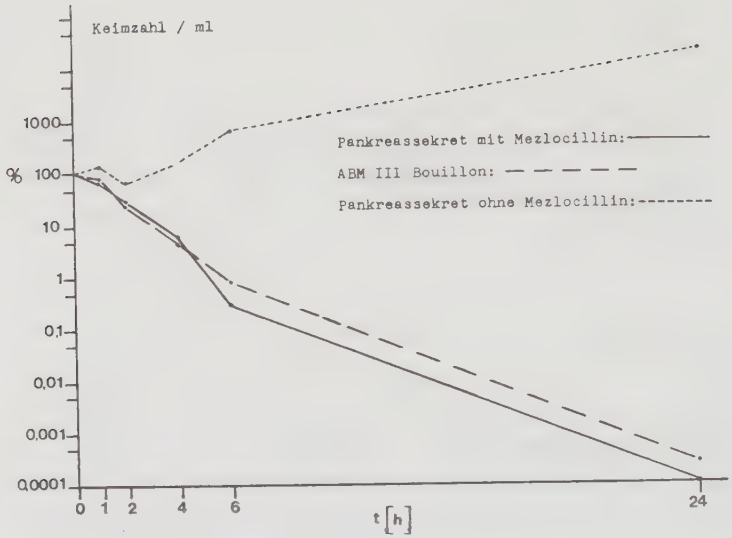
b) Mezlocillin ( Abb. 22, 23 )

Die bakteriziede Wirkung von 20 mcg/ml Mezlocillin wurde in einer Pankreassekretcharge ( P4 ) getestet, in welcher E.Coli und Klebsiella pneumonia in den vorausgegangenen Versuchen gut gewachsen waren.

E.Coli 6363 ( Abb. 22 )

Nach 24 Stunden sind in Pankreassekret mit 20 mcg/ml Mezlocillin keine Keime, in Bouillon mit Mezlocillin 6 Keime pro ml vorhanden. In Pankreassekret ohne Mezlocillin hingegen wächst E.Coli gut . ( Die Keimzahl steigt um den Faktor ca. $2 \times 10^2$ . )
In Bouillon tritt eine Keimzahlreduktion von 99% innerhalb von 5 h 48 Min ein, in Pankreassekret mit Mezlocillin nach 5 h 12 Min.

Die Bakterizidie von 20 mcg/ml Mezlocillin ist in Pankreassekret größer als in Bouillon.




Kinetik der Bakterizidie von 20 mcg/ml Mezlocillin gegen E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5) : ————
in ABM III Bouillon: — — — — . Pankreassekret ohne Mezlocillin:---
Einsaat: 1,9 X $10^5$ – 2,2 X $10^5$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab $10^0$

| | Pankreassekret ohne Mezlocillin | Pankreassekret mit Mezlocillin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ——— | 312 | 348 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 4 X $10^7$ | 0 | 6 X $10^0$ |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | 2,1 X $10^4$ | $\angle$ 4,5 X $10^{-4}$ | 2,7 X $10^{-3}$ |

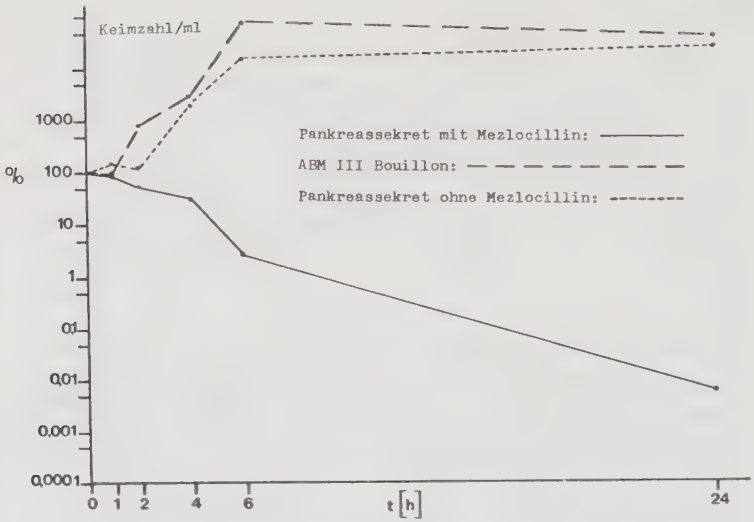
Abb. 22

Klebsiella pneumonia 5439 ( Abb. 23 )

In Bouillon mit 20 mcg/ml Mezlocillin und in Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz wächst Klebsiella pneumonia annähernd gleich gut. Die Keimzahl steigt in beiden Versuchsansätzen um ca. das 5 X $10^2$fache. Nur in Pankreassekret mit 20 mcg/ml Mezlocillin nimmt die Keimzahl ab. Sie sinkt um 99% innerhalb von knapp 9 Stunden. Nach 24 Stunden finden sich hier 90 Keime pro ml.

20 mcg/ml Mezlocillin wirken in Bouillon nicht bakterizid auf auf Klebsiella pneumonia Stamm Nr. 5439. In Pankreassekretcharge P4 hingegen wirkt Mezlocillin in dieser Konzentration antibakteriell.

Zusammenfassend läßt sich eine Wirkungssteigerung von Mezlocillin in Pankreassekret - der Charge P4 - im Vergleich zur Wirkung in Bouillon verzeichnen.




Kinetik der Bakterizidie von 20 mcg/ml Mezlocillin gegen Klebsiella pneumonia 5439 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5): ———— in ABM III Bouillon: — — — —. Pankreassekret ohne Mezlocillin: ---
Einsaat: $4{,}6 \times 10^5$ - $2{,}8 \times 10^6$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab $10^0$

| | Pankreassekret ohne Mezlocillin | Pankreassekret mit Mezlocillin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ———— | 534 | ———— |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | $1{,}1 \times 10^8$ | 90 | $1{,}0 \times 10^9$ |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $2{,}3 \times 10^4$ | $6{,}0 \times 10^{-4}$ | $3{,}5 \times 10^4$ |

Abb. 23

c) Cefotaxim

Die Wirkung von Cefotaxim auf E.Coli und Klebsiella pneumonia wurde in den Konzentrationen von 1 mcg/ml und 10 mcg/ml in den Pankreassekretchargen P2, P3 und P4 getestet.

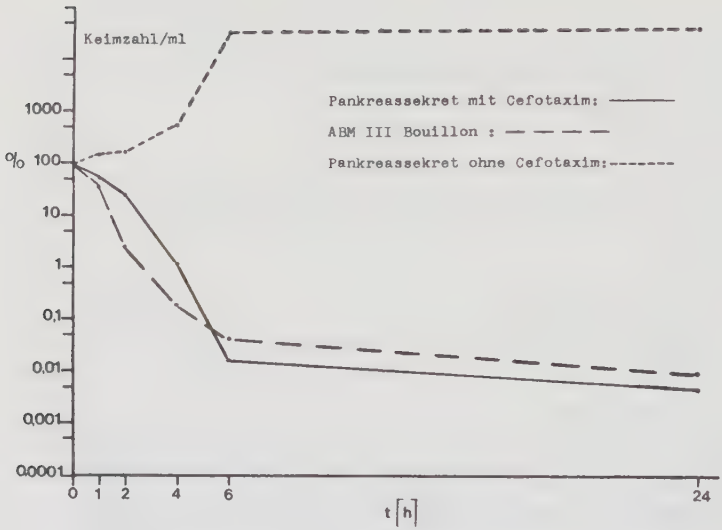
1 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363 in Charge P4
( Abb. 24 )

Cefotaxim wurde in einer Konzentration von 1 mcg/ml gegen E.Coli in einer Pankreassekretcharge mit guten Wachstumsbedingungen ( Charge P4 ) getestet.

E.Coli wächst in dieser Charge ohne Antibiotikazusatz. In beiden Versuchsansätzen mit Cefotaxim sinkt die Keimzahl in 24 Stunden auf 80 Keime pro ml in Bouillon und 10 Keime pro ml in Pankreassekret.

T99 wird in Bouillon innerhalb von 2h 42 Min und in Pankreassekret mit Cefotaxim innerhalb von 4h 6 Min erreicht.

In den ersten 4 Stunden scheint 1 mcg/ml Cefotaxim in Bouillon etwas stärker zu wirken als in Pankreassekret. Vergleicht man aber die Keimzahl nach 24 Stunden, so ist die Keimzahlreduktion in Pankreassekret stärker als in Bouillon.




**Kinetik der Bakterizidie von 1 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5) : ———————**
**in ABM III Bouillon : — — — — . Pankreassekret ohne Cefotaxim:----**
**Einsaat: 1,1 X $10^5$ – 2,5 X $10^5$ Methode: Membranfiltration**
**gemessen ab: $10^0$**

| | Pankreassekret ohne Cefotaxim | Pankreassekret mit Cefotaxim | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ——— | 246 | 162 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 5 X $10^7$ | 10 | 80 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | 4,5 X $10^4$ | 5 X $10^{-3}$ | 3,2 X $10^{-2}$ |

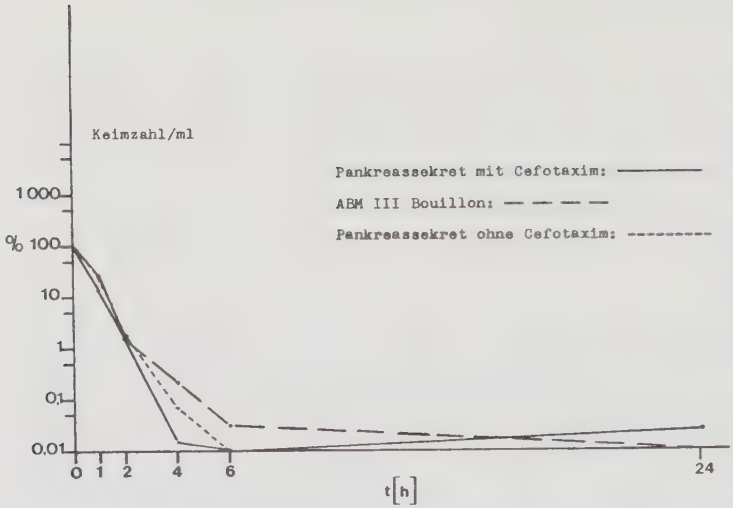
Abb. 24

10 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363 in Charge P2
( Abb. 25 )

In einem weiteren Versuch wurde die Konzentration von Cefotaxim auf 10 mcg/ml erhöht. Der Versuch erfolgte in einer Pankreassekretcharge, in der E.Coli in den vorhergehenden Versuchen abstarb.
Aus Materialmangel konnte jeweils nur 0,1 ml zu den verschiedenen Meßpunkten aus den Proben entnommen werden.

Innerhalb der ersten 6 Stunden findet sich die stärkste antibakterielle Wirkung in den beiden Versuchsansätzen mit Pankreassekret. In beiden wird nach 6 Stunden in 0,1 ml kein Keim mehr gefunden. Bis zu Versuchsende nach 24 Stunden steigt die Keimzahl in Pankreassekret mit 10 mcg/ml Cefotaxim wieder auf 20 Keime pro ml an. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz kann man zu diesem Zeitpunkt in 0,1 ml keinen Keim mehr nachweisen.

In Bouillon mit Cefotaxim sinkt die Keimzahl in den ersten 6 Stunden auf 40 Keime pro ml. Bis zu Versuchsende, nach 24 Stunden, nimmt sie weiter auf 2 Keime pro ml ab.
T99 ist in den Versuchsansätzen annähernd gleich groß ( 132 Min. bis 144 Min.).




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,5) :————
in ABM III Bouillon: — — — — . Pankreassekret ohne Cefotaxim:----
Einsaat: 4,3 X $10^4$ – 1,2 X $10^5$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^{-1}$

| | Pankreassekret ohne Cefotaxim | Pankreassekret mit Cefotaxim | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | 144 | 132 | 144 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 0 in 0,1 ml | 20 | 2 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $< 9 \times 10^{-3}$ | $2,8 \times 10^{-2}$ | $1,6 \times 10^{-3}$ |

Abb. 25

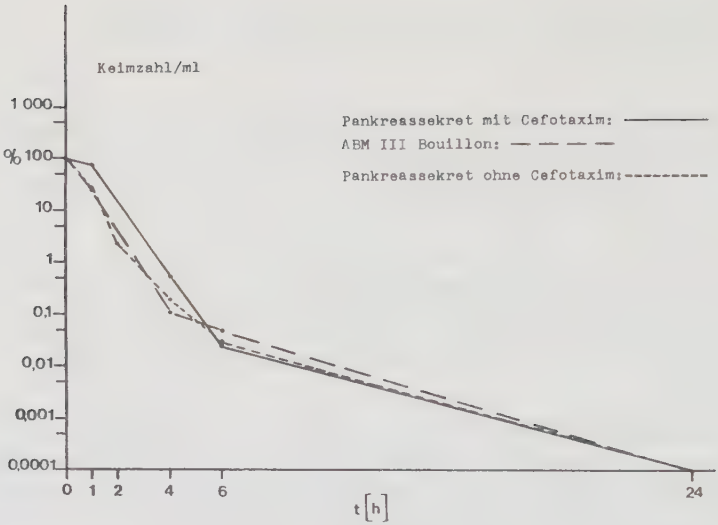
10 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363 in Charge P3
( Abb. 26 )

In einer weiteren Pankreassekretcharge mit schlechten Wachstumsbedingungen für E.Coli ( Charge P3 ) wurde die Bakterizidiekinetik von 10 mcg/ml Cefotaxim bestimmt.

Die antibakterielle Wirkung von Cefotaxim setzt in Pankreassekret mit einer Verzögerung von ca 1 Stunde ein. Nach 24 Stunden sind alle drei Versuchsansätze steril.

Die Keimzahl sinkt in Pankreassekret mit Cefotaxim langsamer auf 1% der Ausgangskeimzahl als in Bouillon bzw. in Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz. In beiden Versuchsansätzen ist T99 annähernd gleich groß.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Cefotaxim nur in Charge P4 eine bessere Wirkung zeigt, während in den Chargen P2 und P3 keine Wirkungssteigerung der von sich aus keimtötenden Pankreassekretcharge zu verzeichnen ist.




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefotaxim gegen E.Coli 6363
in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0) : ————
in ABM III Bouillon: — — — . Pankreassekret ohne Cefotaxim:-----
Einsaat: 1,35 X $10^5$ – 1,9 X $10^5$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^0$

| | Pankreassekret ohne Cefotaxim | Pankreassekret mit Cefotaxim | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | 156 | 216 | 168 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 0 | 0 | 0 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $\angle 7{,}4 \times 10^{-4}$ | $\angle 5 \times 10^{-4}$ | $\angle 6 \times 10^{-4}$ |

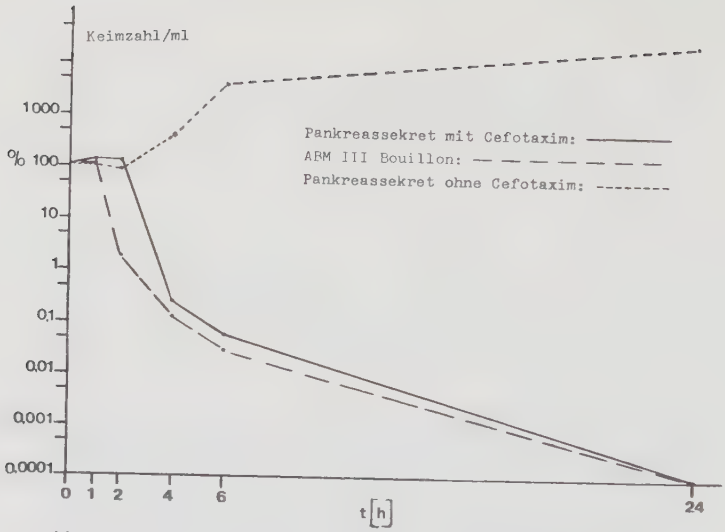
Abb. 26

1 mcg/ml Cefotaxim gegen Klebsiella pneumonia 5439 in Charge P4 ( Abb. 27 )

Die Kinetik der antibakteriellen Wirkung von 1mcg/ml Cefotaxim auf Klebsiella pneumonia 5439 wurde in einer Pankreassekretcharge getestet, in der Klebsiella in den vorhergehenden Versuchen gut wuchs ( Charge P4 ).

In Bouillon und in Pankreassekret mit 1 mcg/ml Cefotaxim sind nach 24 Stunden keine Keime mehr nachzuweisen. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz steigt die Keimkonzentration in diesem Zeitraum um den Faktor von ca. $2 \times 10^2$.
Um 99% sinkt die Keimzahl in Bouillon innerhalb von 2h 24 Min, in Pankreassekret mit Cefotaxim innerhalb von 3h 30 Min. Die bakterizide Wirkung von Cefotaxim tritt in Pankreassekret erst nach einer Verzögerung von ca 2 Stunden auf.

Innerhalb der ersten 6 Stunden wirkt 1 mcg/ml Cefotaxim besser in Bouillon als in Pankreassekret. Nach 24 Stunden ist die Wirkung in Bouillon und Pankreassekret annähernd gleich groß.




Kinetik der Bakterizidie von 1 mcg/ml Cefotaxim gegen Klebsiella pneumonia 5439 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5): ———— in ABM III Bouillon: — — — —. Pankreassekret ohne Cefotaxim: ----- Einsaat: 1,8 X $10^5$ - 2,4 X $10^5$ Methode: Membranfiltration gemessen ab: $10^0$

| | Pankreassekret ohne Cefotaxim | Pankreassekret mit Cefotaxim | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ———— | 210 | 144 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 4,1 X $10^7$ | 0 | 0 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | 2,2 X $10^4$ | $<$ 4,0 X $10^{-4}$ | $<$ 5,0 X $10^{-4}$ |

Abb. 27

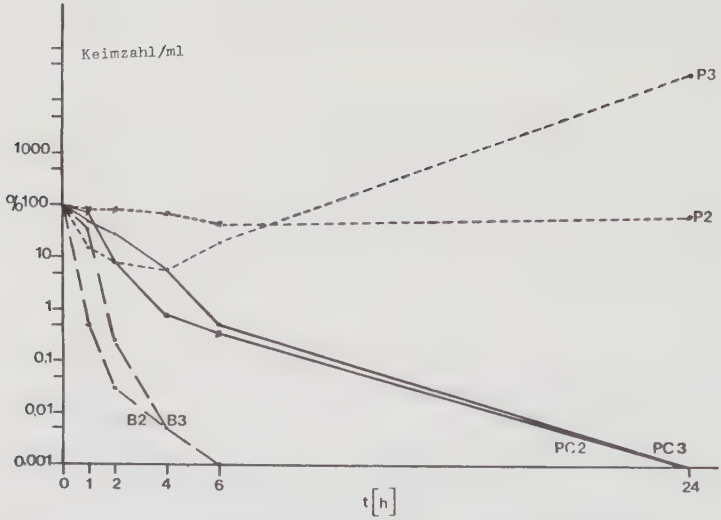
10 mcg/ml Cefotaxim gegen Klebsiella pneumonia 5439 in zwei Pankreassekretchargen ( P2 und P3 )
( Abb. 28 )

In einem weiteren Versuch wurde die Konzentration von Cefotaxim auf 10 mcg/ml erhöht. Zum Vergleich der Bakterizidiekinetik diente das Keimwachstum in den Pankreassekretchargen P2 und P3, Medien mit unterschiedlich guten Wachstumsbedingungen für Klebsiella pneumonia Stamm Nr. 5439 ( vergl. 3.1.1.b. ).

10 mcg/ml Cefotaxim erleiden in Pankreassekret einen Wirkungsverlust im Vergleich zu Bouillon.
In 0,1 ml Bouillon sind nach 6 Stunden ein bzw. kein Keim mehr nachzuweisen. Zu diesem Zeitpunkt ist die Keimzahl in Pankreassekret mit Cefotaxim erst auf 0,36% ( = $1,0 \times 10^3$ Keime pro ml ) in Charge P2 bzw. auf 0,53% ( = $1,6 \times 10^3$ Keime pro ml ) in Charge P3 der Ausgangskeimzahl gesunken.

Nach 24 Stunden sind sowohl Bouillon als auch Pankreassekret der Charge P3 mit Cefotaxim steril. Charge P2 mit Cefotaxim enthält zu diesem Zeitpunkt noch 4 Keime pro ml. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz bleibt die Keimzahl annähernd gleich ( Charge P2 ), bzw. Klebsiella pneumonia wächst aus ( Charge P3 ).

Die Zeit, in der die Keimzahl um 99% sinkt ( T99 ), liegt in Bouillon deutlich unter der in Pankreassekret.




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefotaxim gegen Klebsiella pneumonia 5439 in den Pankreassekretproben P2 (pH 9,5) und P3 (pH 9,0): ————— , in ABM III (B3) und Müller Hinton (B2) Bouillon: — — — —. Pankreassekret ohne Cefotaxim: -------
Einsaat: $2,0 \times 10^{5} - 8,0 \times 10^{5}$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^{-1}$

| | B2 | B3 | P2 mit Cefotaxim | P3 mit Cefotaxim | P2 ohne Cefotaxim | P3 ohne Cefotaxim |
|---|---|---|---|---|---|---|
| T99 / Min | 54 | 102 | 228 | 330 | ——— | ——— |
| Keimzahl nach 24h pro ml absolut | 0 | 0 | 4 | 0 | $1,6 \times 10^{5}$ | $2,4 \times 10^{8}$ |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $<5X10^{-4}$ | $<5X10^{-4}$ | $1,4X10^{-3}$ | $<3X10^{-4}$ | 64 | $3,0X10^{4}$ |

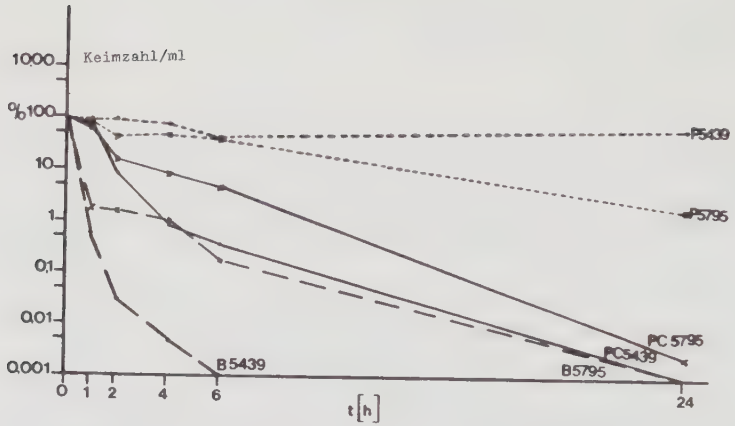
Abb. 28

10 mcg/ml Cefotaxim gegen zwei verschiedene Klebsiellenstämme ( 5439 und 5795 )
( Abb. 29 )

Die Wirkung von 10 mcg/ml Cefotaxim auf zwei verschiedene Klebsiellenstämme ( Nr. 5439 und 5795 ) wurde in einer Pankreassekretcharge mit schlechten Wachstumseigenschaften für Klebsiella pneumonia untersucht ( in Charge P2 ).

In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz nimmt die Keimzahl des einen Stammes ( 5795 ) gering ab. Bei dem anderen Stamm ( 5439 ) bleibt sie nahezu gleich.

Unter 10 mcg/ml Cefotaxim kommt es sowohl in Pankreassekret als auch in Bouillon zu einem deutlichen Rückgang der Keimzahlen beider Stämme . Diese Keimzahlverminderung fällt allerdings bei Stamm Nr. 5439 besonders deutlich aus.
Die Keimzahlreduktion beider Stämme ist in Bouillon größer als in Pankreassekret.




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefotaxim gegen Klebsiella pneumonia 5439 und 5795 in einer Pankreassekretprobe P2 (pH 9,5): ———— in Müller Hinton Bouillon: — — — — —.
Pankreassekret ohne Cefotaxim: ------
Einsaat: $2,0 \times 10^5$ - $8,0 \times 10^5$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^0$

| | B 5439 | B 5795 | P 5439 mit Cefotaxim | P 5795 mit Cefotaxim | P 5439 ohne Cefotaxim | P 5795 ohne Cefotaxim |
|---|---|---|---|---|---|---|
| T99 / Min | 54 | 240 | 228 | 576 | —— | —— |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 0 | 0 | 4 | 10 | $1,6 \times 10^5$ | $1,2 \times 10^4$ |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $< 5 \times 10^{-4}$ | $< 1,25 \times 10^{-4}$ | $1,4 \times 10^{-3}$ | $2,5 \times 10^{-3}$ | 64 | 1,85 |

Abb. 29

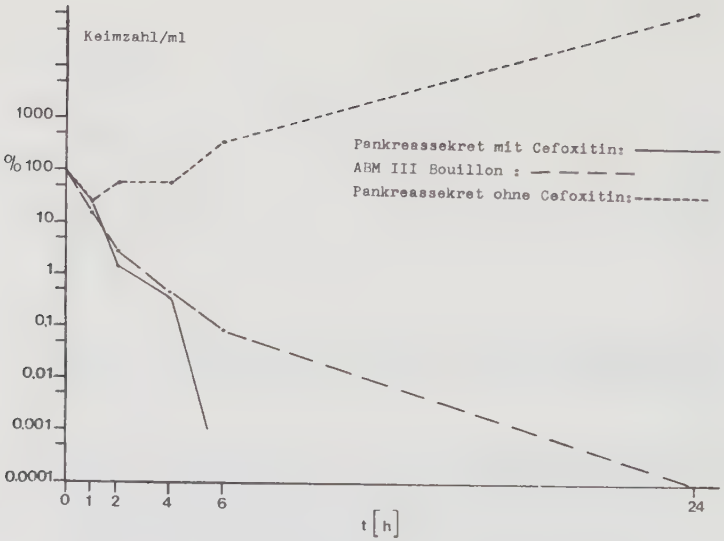
d) Cefoxitin

10 mcg/ml Cefoxitin wurde gegen E.Coli und Klebsiella pneumonia in einer Pankreassekretcharge mit guten Wachstumseigenschaften für beide Keime ( Charge P4 ) getestet.
Die hier erzielten Ergebnisse entsprechen denen, welche mit Cefotaxim erreicht wurden.

10 mcg/ml Cefoxitin gegen E.Coli 6363 in Charge P4
( Abb. 30 )

In Pankreassekret mit Cefoxitin ist schon nach 6 Stunden in einem Milliliter kein Keim mehr nachzuweisen. In Bouillon beträgt zu diesem Zeitpunkt die Keimzahl 140 Keime pro ml.

Nach 24 Stunden sind beide Versuchsansätze steril. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz hingegen wächst E.Coli gut ( um ca fünf Zehnerpotenzen ) .




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefoxitin gegen E.Coli 6363 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5) : ——————
in ABM III Bouillon: — — — . Pankreassekret ohne Cefoxitin: -----
Einsaat: $7,7 \times 10^4 - 1,6 \times 10^5$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^0$

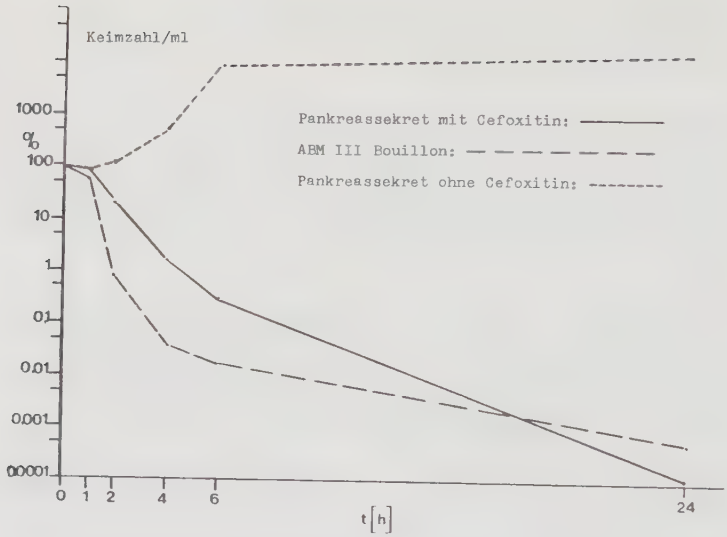
| | Pankreassekret ohne Cefoxitin | Pankreassekret mit Cefoxitin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ——— | 150 | 186 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | $9,5 \times 10^7$ | 0 | 0 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $1,2 \times 10^5$ | $< 1 \times 10^{-3}$ | $< 6 \times 10^{-4}$ |

Abb. 30

10 mcg/ml Cefoxitin gegen Klebsiella pneumonia 5439 in Charge P4 ( Abb. 31 )

Während in Pankreassekret ohne Cefoxitin die Keimzahl innerhalb von 24 Stunden um ca. vier Zehnerpotenzen steigt, beträgt sie zu diesem Zeitpunkt für Pankreassekret mit Cefoxitin 1 Keim pro ml und für Bouillon 4 Keime pro ml.

In den ersten 6 Stunden ist die Wirkung von 10 mcg/ml Cefoxitin in Bouillon stärker als in Pankreassekret. Die Keimzahlreduktion innerhalb von 24 Stunden ist dagegen in Pankreassekret stärker.




Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Cefoxitin gegen Klebsiella pneumonia 5439 in einer Pankreassekretprobe P4 (pH 9,5): ———— in ABM III Bouillon: — — — . Pankreassekret ohne Cefoxitin: --- Einsaat: 4,3 X $10^5$ - 8,0 X $10^5$ Methode: Membranfiltration gemessen ab $10^0$

| | Pankreassekret ohne Cefoxitin | Pankreassekret mit Cefoxitin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ———— | 270 | 114 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 7,6 X $10^7$ | 1 | 4 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | 1,7 X $10^4$ | 1,25 X $10^{-4}$ | 5,7 X $10^{-4}$ |

Abb. 31

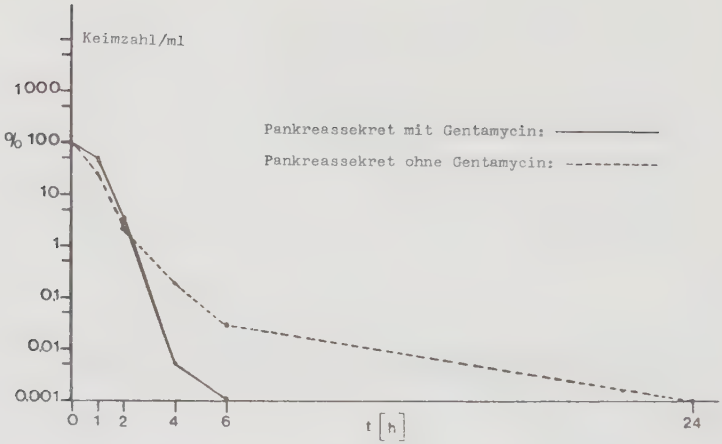
e) Gentamycin

5 mcg/ml Gentamycin wurde gegen E.Coli und Klebsiella pneumonia in einer Pankreassekretcharge getestet, in der in den vorhergehenden Versuchen E.Coli abstarb und Klebsiella pneumonia relativ gut wuchs ( Charge P3).

Aus Materialmangel konnte zu den einzelnen Meßpunkten jeweils nur 0,1 ml aus den Proben entnommen werden.

5 mcg/ml Gentamycin gegen E.Coli 6363 in Charge P3
( Abb. 32 )

Die Wirkung von Gentamycin auf E.Coli in Bouillon konnte nicht ausgewertet werden.
Im Gegensatz zu den getesteten Betalactam-Antibiotika Ampicillin und Cefotaxim steigert die Zugabe von 5mcg/ml Gentamycin zu Pankreassekret der Charge P3 die keimtötende Wirkung dieser Charge auf E.Coli. Schon nach 6 Stunden ist in 0,1 ml Pankreassekret mit Gentamycin kein Keim mehr nachzuweisen. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz findet man zu diesem Zeitpunkt noch 4 Keime in 0,1 ml.
Die Keimzahl sinkt in beiden Versuchsansätzen etwa gleich schnell um 99 %.




Kinetik der Bakterizidie von 5 mcg/ml Gentamycin gegen E.Coli 6363 in einer Pankreassekretprobe P3 (pH 9,0): ——————— .
Pankreassekret ohne Gentamycin: ----------
Einsaat: $1{,}35 \times 10^{5}$ - $4{,}4 \times 10^{5}$ Methode: Membranfiltration
gemessen ab: $10^{-1}$

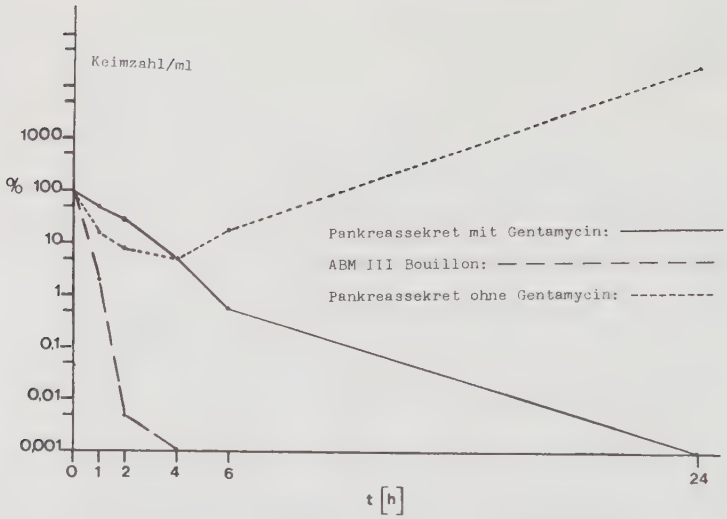
| | Pankreassekret ohne Gentamycin | Pankreassekret mit Gentamycin |
|---|---|---|
| T99 / Min | 156 | 144 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 0 | 0 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | $< 7{,}0 \times 10^{-4}$ | $< 2{,}3 \times 10^{-4}$ |

Abb. 32

5 mcg/ml Gentamycin gegen Klebsiella pneumonia 5439 in Charge P3 ( Abb. 33 )

Gegenüber Klebsiella pneumonia verzeichnet Gentamycin in Pankreassekret einen deutlichen Wirkungsverlust im Vergleich zu Bouillon. In Nährbouillon wird die Keimzahl innerhalb von 66 Min, in Pankreassekret erst nach 330 Min auf ein Prozent der Ausgangskeimzahl ( um 99%) reduziert. Während schon nach 4 Stunden in 0,1 ml Bouillon kein Keim mehr nachzuweisen ist, beträgt die Keimzahl in Pankreassekret mit Gentamycin zu diesem Zeitpunkt noch 1 X $10^4$ Keime pro ml ( ca 5% der Einsaat).

Nach 24 Stunden sind in beiden Proben mit Gentamycin keine E.Colikeime mehr nachzuweisen. In Pankreassekret ohne Antibiotikazusatz hingegen wächst E.Coli gut.




Kinetik der Bakterizidie von 5 mcg/ml Gentamycin gegen Klebsiella pneumonia 5439 in einer Pankreassekretcharge P3 (pH 9,0): ——— in ABM III Bouillon: — — —. Pankreassekret ohne Gentamycin:---- Einsaat: 2,0 X $10^5$ - 8,0 X $10^5$ Methode: Membranfiltration gemessen ab: $10^{-1}$

| | Pankreassekret ohne Gentamycin | Pankreassekret mit Gentamycin | Bouillon |
|---|---|---|---|
| T99 / Min | ——— | 330 | 66 |
| Keimzahl nach 24h absolut pro ml | 2,4 X $10^8$ | 0 | 0 |
| Keimzahl nach 24h in % der Einsaat | 3,0 X $10^4$ | $<$5,0 X $10^{-4}$ | $<$5,0 X $10^{-4}$ |

Abb. 33

## 4. Diskussion

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, daß Pankreassekret ein schlechtes Medium für fakultativ pathogene Keime ist.

Parameter zur Beurteilung des Wachstumsverhaltens von Bakterien sind hierbei - wie allgemein üblich ( 24 ) - neben der Maximaltrübung und der höchsten Keimzahl pro Milliliter die Geschwindigkeit, in der dieses erreicht wird. Ferner ist die Länge der Lag-Phase ( bei gleichem Erreger und unter gleichen Versuchsbedingungen ) ein Indikator für den Nährstoffgehalt bzw. den Gehalt an Hemmstoffen im Medium.

Die in Pankreassekret erreichten Trübungssteigerungen und die Wachstumsgeschwindigkeiten bleiben meist unter denen in anderen Körperflüssigkeiten zurück ( 18, 19, 30, 35, 37, 42 ).
Wie Keimzahlbestimmungen und Trübungsmessungen übereinstimmend zeigen, kommt es nur in einer von fünf Sekretproben ( in Charge P4 ) zu einem deutlichen Wachstum aller Erreger, während in den übrigen Proben meist nur ein spärliches oder kein Keimwachstum zu verzeichnen ist. Auch die verschiedenen fakultativ pathogenen Keime verhalten sich nicht einheitlich ( vgl. Tab. I ).

Die größte Trübungszunahme aller Keime in Pankreassekret wird von Proteus mirabilis mit 25 Teilstrichen der Trübungsskala erreicht ( vgl. Abb. 8 ). In Charge P4 steigt die Keimzahl um den Faktor $10^2$, in Charge P3 um das

| | P1 | | | P2 | | | P3 | | | P4 | | | P5 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | nativ | 56°C | 100°C | nativ | 56°C | 100°C | nativ | 56°C | 100°C | nativ | 56°C | 100°C | nativ | 56°C | 100°C |
| E. coli | ↓↓↓ | -\|- | -\|- | ⇊ | -\|- | -\|- | ⇊ | ↑↑ | ⇈ | ↑↑ | (↑) | + - | ⇊ | -\|- | -\|- |
| Klebsiella pneumonia | ↑ | -\|- | -\|- | ↑ | -\|- | -\|- | ⇈ | ⇈ | ⇈ | ⇈ | ⇈ | ⇈ | ↑↑ | -\|- | -\|- |
| Proteus mirabilis | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | ⇈ | -\|- | ↑↑ | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- |
| Pseudomonas aeruginosa | ± | -\|- | -\|- | (↑) | -\|- | -\|- | ↑ | -\|- | -\|- | ↑↑ | -\|- | -\|- | ↑ | -\|- | -\|- |
| Streptococcus faecalis | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | ↑ | -\|- | -\|- | (↓) | -\|- | -\|- |
| Staphylococcus aureus | ↓↓ | -\|- | -\|- | + - | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | -\|- | ⇈ | -\|- | -\|- | + - | -\|- | -\|- |

nicht gemessen: -\|-

Keimzahldifferenz ∠ 5 Keime: ±

Keimzahlzunahme um den Faktor $\angle 10^1$ : ( ↑ )
$10^1 - 10^2$: ↑
$10^2 - 10^3$: ↑↑
$>10^3$ : ↑↑↑

Keimzahlabnahme um den Faktor $\angle 10^1$ : ( ↓ )
$10^1 - 10^2$ : ↓
$10^2 - 10^3$ : ↓↓
$>10^3$ : ↓↓↓

Tabelle I Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen in verschiedenen Pankreassekretproben

$1{,}5 \times 10^3$fache innerhalb von 24 Stunden ( vgl. Abb. 9 ). Auch in den übrigen Körperflüssigkeiten wächst Proteus mirabilis verglichen mit anderen fakultativ pathogenen Keimen verhältnismäßig gut.

Klebsiella pneumonia vermehrt sich unabhängig von Stamm und verwendeter Pankreassekretcharge ebenfalls relativ stark ( vgl. Abb. 7 ). Die Keimzahl steigt um das 27 bis 2000fache der Ausgangskeimzahl in 24 Stunden ( vgl. Abb. 5 und 6 ). Die erreichte maximale Trübung von 20 Einheiten der Trübungsskala bleibt auch hier deutlich unter der in anderen Körperflüssigkeiten zurück. In Liquor und Galle werden Werte um 40 erreicht, in Urin und Ascitis sogar Werte über 80. ähnlich wie in Galle ist nach 24 Stunden in Pankreassekret noch kein Ende des Keimwachstums zu erkennen.

Bei E.Coli, dem dritten Enterobakterium, findet sich eine große Abhängigkeit des Wachstumsverhaltens von der verwendeten Pankreassekretcharge ( vgl. Abb. 3 ); hingegen verhalten sich verschiedene E.Colistämme in einer Charge gleich ( vgl. Abb. 4 ). Während E.Coli in vier von fünf Pankreassekretchargen abstirbt, wächst der Keim nach einer kurzen Ruhephase in Charge P4 relativ gut ( vgl. Abb. 2 ). Hier wird die größte Wachstumsgeschwindigkeit ( m=2,26 ) und die zweitgrößte Trübungszunahme in Pankreassekret mit 24 Teilstrichen der Trübungsskala erzielt.
Das Medium erschöpft sich aber schnell, und E.Coli stirbt auch in dieser Charge ab. Wie Klebsiella pneumonia erzielt auch E.Coli in anderen Körperflüssigkeiten weit größere

Trübungssteigerungen. In Galle, Liquor und Speichel erreicht E.Coli Trübungswerte von 38 - 54 und in Fruchtwasser, Ascitis und Urin Werte bis 80 Einheiten der Trübungsskala.

Die kleinste meßbare Trübungszunahme und die geringste Wachstumsgeschwindigkeit finden sich bei Pseudomonas aeruginosa ( vgl. Abb. 10 ). Dabei ist in Charge P4 das Keimwachstum etwa doppelt so groß wie in den übrigen Chargen ( vgl. Abb. 11 ). Generell wächst Pseudomonas aeruginosa hier wie in den übrigen Körperflüssigkeiten schlechter als die anderen Enterobakterien. Die logarithmische Phase des Wachstums setzt aber in Pankreassekret schneller ein als in den oben genannten Körperflüssigkeiten. Die in Pankreassekret erreichte maximale Trübungszunahme von 15 Einheiten der Trübungsskala bleibt weit unter der in anderen Körperflüssigkeiten zurück.

Staphylococcus aureus wächst ebenfalls in Pankreassekret schlecht. Die relativ besten Ergebnisse werden wieder in Charge P4 erzielt ( vgl. Abb. 12 und 13 ). Das Keimwachstum setzt auch hier erst nach einer langen Ruhephase ein. Trotz der relativ hohen Wachstumsgeschwindigkeit ( m = 2,22 ) bleibt die Trübungszunahme gering ( 16,5 Teilstriche der Trübungsskala ), da die Vermehrungsphase schon nach kurzer Zeit ( 12 Stunden nach Versuchsbeginn ) beendet und die stationäre Phase des Keimwachstums erreicht ist. Auch bei diesem Keim werden in anderen Körperflüssigkeiten weit höhere Trübungszunahmen verzeichnet.

Während Streptococcus faecalis in Mangelmedien wie z.B. Fruchtwasser, Pleuraflüssigkeit und Ascitis ( 18 ) mit sichtbarer Trübung - wenn auch geringer als andere fakultativ pathogene Keime - wächst, läßt sich die Zunahme der Mikroorganismen um das 40fache in Pankreassekret der Charge P4 nicht durch Trübungsmessungen belegen. Die Zunahme der Mikroorganismendichte ( Masse / Volumen ) ist zu gering, bzw. die Sedimentation der Keime zu stark, um mit dieser Methode ein Keimwachstum messen zu können.

Die Untersuchung über das Wachstum von E.Coli und Klebsiella pneumonia in inaktiviertem ( 30 Min. auf 56°C erhitztem ) bzw. denaturiertem ( 15 Min. auf 100°C erhitztem ) Pankreassekret ( vgl. Tab. I ) und in mit Bouillon angereichertem Pankreassekret sollte Aufschluß darüber geben, inwieweit Pankreassekret nur ein Mangelmedium ist oder Hemmstoffe enthält.

Wäre Pankreassekret der verschiedenen Chargen nur ein Mangelmedium, so dürfte zumindest die Inaktivierung keinen Einfluß auf das Keimwachstum haben. Bei der Denaturierung könnte ein vermindertes Keimwachstum durch Vernichten von Nährstoffen bedingt sein.
Vorausgesetzt, hitzelabile Hemmstoffe gegen E.Coli und Klebsiella pneumonia seien die Ursache des schlechten Wachstums in Pankreassekret, dann wäre in inaktiviertem und denaturiertem Pankreassekret ein stärkeres Wachstum zu erwarten als in unverändertem Pankreassekret.

In inaktiviertem Pankreassekret der Charge P3, welche sich wie die Chargen P1, P2 und P5 in den vorhergehenden Versuchen als schlechtes Wachstumsmedium erwiesen hatte, wächst E.Coli. In denaturiertem und nativem Pankreassekret dieser Charge stirbt E.Coli ab ( vgl. Abb. 17 ). Offensichtlich enthält diese Charge Hemmstoffe, welche durch Inaktivierung eliminiert werden ( vergleichbar mit der Inaktivierung von Serum durch Entfernen von Komplement ). Das fehlende Wachstum in denaturiertem Pankreassekret muß allerdings eine andere Ursache haben.

In erhitztem ( auf 56°C und 100°C ) Pankreassekret der Charge P4, einem guten Wachstumsmedium, beobachtet man eine Abnahme des Keimwachstums von E.Coli ( vgl. Abb. 15 ). Pankreassekret der Charge P4 enthält im Gegensatz zu Charge P3 wahrscheinlich keine wärmeabhängigen Hemmstoffe gegen E.Coli.

Da Klebsiella pneumonia in nativem und erhitztem Pankreassekret der Chargen P3 und P4 gleich gut wächst ( vgl. Abb. 16 und 18 ), sind in diesen Chargen vermutlich keine temperaturabhängigen wachstumshemmenden Stoffe enthalten.

Wäre Pankreassekret nur ein Mangelmedium, so müßten in Bouillon und in Bouillon-Pankreasgemisch, zwei Medien mit gleichem Nährstofgehalt, identische Trübungskurven zu erwarten sein. Die Versuche zeigen aber einen unterschiedlichen Verlauf der Trübungskurven, die besonders deutlich bei E.Coli ausfallen ( vgl. Abb. 19 und 20 ).

Neben den Untersuchungen über das Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen in Pankreassekret erschien uns besonders die Wirksamkeit von Antibiotika in dieser Körperflüssigkeit interessant. Hierzu wurde die Bakterizidiekinetik angewandt, die leider wegen des zu geringen Umfangs der einzelnen Proben nicht in allen Pankreassekretproben durchgeführt werden konnte.

Als Maß für den bakteriziden Effekt eines Antibiotikums wurde übereinstimmend mit anderen Arbeiten über die Bakterizidiekinetik ( 10, 18, 30, 42 ) die Zeit bestimmt, in der die 99%ige Abtötung ( T99 ) erreicht wurde. T99 ist um so kleiner, je stärker ausgeprägt die Bakterizidie eines Antibiotikums in dem entsprechenden Medium ist.
Zusätzlich zu T99 wurde die Keimzahl nach 24 Stunden berücksichtigt. Sie wurde absolut und in Prozent der Einsaat angegeben.

Alle untersuchten Antibiotika haben in Pankreassekret eine andere Aktivität als in Bouillon. Es lassen sich sowohl Wirkungssteigerungen als auch Wirkungsverluste feststellen. Es finden sich aber auch Wirkungsunterschiede des gleichen Antibiotikums in verschiedenen Pankreassekretchargen ( Tab. II ). Einige native Pankreassekretchargen ( P2 und P3 ) wirken allein stärker hemmend auf E.Coli als Pankreassekret der gleichen Charge plus Antibiotikum oder Bouillon plus Antibiotikum.

Für die Untersuchung zur Bakterizidiekinetik wurden zwei Erregerarten, E.Coli und Klebsiella pneumonia, herangezogen. Nur bei E.Coli finden sich Aktivitätsunterschiede

| | P2 | | P3 | | P4 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | E.Coli | Klebs. | E.Coli | Klebs. | E.Coli | Klebs. |
| Ampicillin | - \| - | - \| - | — | - \| - | - \| - | - \| - |
| Mezlocillin | - \| - | - \| - | - \| - | - \| - | + | +++ |
| Cefotaxim | (+) | — — | — | — — | — — | — — |
| Cefoxitin | - \| - | - \| - | - \| - | - \| - | + | — — |
| Gentamycin | - \| - | - \| - | - \| - | — — | - \| - | - \| - |

nicht gemessen: — | —

T99 in Pankreassekret größer als in Bouillon ( Diff. ∠30 Min. ):(—)
" ( Diff. 30-60 Min.) : —
" ( Diff. >60 Min.):— —

Wirkung in Pankreassekret und Bouillon gleich: ±

T99 in Pankreassekret kleiner als in Bouillon ( Diff. ∠ 30 Min.):(+)
" ( Diff. 30-60 Min. ): +
" ( Diff. >60 Min.):++

Keimabtötung nur in Pankreassekret: +++

Tabelle II Antibakterielle Wirkung von Antibiotika bezogen auf T99

der untersuchten Antibiotika in Abhängigkeit von der verwandten Pankreassekretcharge. In Charge P4 wird T99 unter den Betalactam-Antibiotika Mezlocillin und Cefoxitin in kürzerer Zeit erreicht als in Bouillon. Cefotaxim erfährt in dieser Charge einen starken Wirkungsverlust.
In Charge P3 hingegen ist die Effektivität beider untersuchter Substanzen ( Ampicillin und Cefotaxim ) geringer als in Bouillon. Die Keimzahlreduktion von E.Coli im Beobachtungszeitraum von 24 Stunden ist jedoch in Pankreassekret ( mit Ausnahme von Cefotaxim in Charge P2 ) größer als in Bouillon.
Interessant ist, daß 20 mcg/ml Mezlocillin nur in Pankreassekret der Charge P4 antibakteriell auf Klebsiella pneumonia wirkt. In Bouillon dagegen ist die gleiche Mezlocillindosis gegenüber diesem Klebsiellenstamm wirkungslos.

Gentamycin, das einzige untersuchte Aminoglycosid-Antibiotikum, bewirkt im Gegensatz zu den Betalactam-Antibiotika in Pankreassekret der Charge P3, einem Medium, in welchem E.Coli spontan abstirbt, eine Steigerung der keimtötenden Wirkung auf diesen Erreger.

Die antibakterielle Aktivität aller untersuchter Substanzen ( Betalactam-Antibiotika und Gentamycin ) gegenüber Klebsiella pneumonia ist ( falls keine Resistenz gegen das Antibiotikum vorliegt, wie offensichtlich bei Mezlocillin ) in Bouillon größer als in Pankreassekret. Auch die Keimzahlreduktion innerhalb von 24 Stunden ist in Bouillon deutlicher.

Die Tatsache, daß Pankreassekret offensichtlich für fakultativ pathogene Erreger ein schlechtes Nährmedium darstellt, ist möglicherweise eine Ursache für das Fehlen bzw. seltene Vorkommen primärer bakterieller Pankreasinfektionen ( 5, 12, 14, 22 ). Infektionen bei chronischen Pankreaserkrankungen kommen gelegentlich vor.

Gregg ( 14 ) fand bei einigen Patienten mit chronischer bzw. akut rezidivierender Pankreatitis oder mit Pankreaskarzinom anläßlich einer ERCP ein infiziertes Pankreassekret. Es wurden sowohl Bakterien ( hauptsächlich E.Coli, Streptococcus faecalis, Enterobakter bzw. Klebsiella spezies, Pseudomonas aeruginosa und Proteus mirabilis ) als auch Candida, nachgewiesen. Eine Kontamination während der ERCP schloß der Autor aus.
Bei der Mehrzahl der Patienten wurden Veränderungen mit Erweiterungen und Konturunebenheiten des Pankreasgangsystems gefunden. Die o.g. Arbeit ist, soweit bekannt, die einzige, in welcher bakterielle Infektionen des Pankreas bei Patienten mit entsprechenden chronischen Leiden dokumentiert werden.

Eine wichtige und neue Infektionsquelle sind endoskopische Eingriffe am Gallengang- bzw. Pankreasgangsystem. Wie aus der Literatur hervorgeht, sind Endoskope häufig bakteriell kontaminiert ( 1, 6, 8, 29, 34 ). Bei dem endoskopischen Eingriff können so die Erreger direkt in das Gallengang- bzw. Pankreasgangsystem inokuliert werden, mit nachfolgendem schweren Krankheitsbild. Besonders gefürchtet ist in diesem Zusammenhang die retrograde Füllung einer Pankreascyste ( 3, 6, 28, 29, 45 ).

Wegen dieser Infektionsgefahr wird von einigen Autoren generell die prophylaktische Antibiotikagabe vor endoskopischen Prozeduren empfohlen ( 20, 27, 28, 29, 38 ). Diese Prophylaxe vor Eingriffen stellt eine neue und wichtige Indikation für eine Antibiotikaanwendung dar.

Weitere Indikationen für Antibiotika sind sekundäre Infektionen nach Oberbauchoperationen sowie nach Eingriffen an diesem Organ ( 26, 27 ). Einige Autoren, besonders aus dem angelsächsischen Raum, empfehlen bei derartigen Eingriffen eine Kurzzeitprophylaxe, meist als eintägige Antibiotikagabe ( 15, 33, 41 ).

Bei der Wahl eines Antibiotikums muß, wie bei allen speziellen Indikationen, neben der Pharmakokinetik und dem zu erwartenden Erregerspektrum, auch die Wirksamkeit am Ort der Infektion, also im Pankreas, berücksichtigt werden.

Da einerseits über die Wirkung von Antibiotika in Pankreassekret nahezu keine Information vorliegt, andererseits bekanntermaßen die Aktivität von Antibiotika ganz erheblich durch Ionengehalt ( 9, 44 ) und pH-Wert ( 32 ) am Ort der Infektion beeinflußt werden ( 18, 19, 21, 39, 40, 43 ), sind unsere Untersuchungen über die Wirksamkeit von Antibiotika in Pankreassekret eine Basisinformation, die bei der Wahl eines Antibiotikums berücksichtigt werden sollten.

## 5. Zusammenfassung

Pankreassekret ist ein Mangelmedium, in dem sich fakultativ pathogene Keime nur geringfügig vermehren. Zwischen den Erregern bestehen charakteristische Wachstumsunterschiede. Enterobakterien wachsen besser als Pseudomonas und gram-positive Erreger in dieser Körperflüssigkeit.

Daneben zeigt es sich, daß das Wachstumsverhalten der Keime auch chargenabhängig ist. In vier von fünf Pankreassekretchargen findet sich ( außer bei Klebsiella pneumonia,welche in mehreren Proben ein deutliches Wachstum zeigt ) keine oder nur eine geringe Keimzahlzunahme. Nur in Charge P4 vermehren sich alle untersuchten Erreger gut.

Zumindest eine Pankreassekretprobe ( P3 ) enthält Hemmstoffe gegen E.Coli, welche bei Erhitzen auf 56°C ( Inaktivieren ) verschwinden. In denaturiertem ( auf 100°C erhitztem ) Pankreassekret der gleichen Charge stirbt hingegen E.Coli ab.
Auch in Pankreassekretprobe P4 findet sich eine Änderung des Wachstumsverhaltens durch Inaktivierung. Im Gegensatz zu der erwarteten Wachstumssteigerung nimmt die Keimzahl ab. In denaturiertem Pankreassekret bleibt die Keimzahl innerhalb von 24 Stunden nahezu gleich.
Im Gegensatz zu E.Coli hat Denaturieren und Inaktivieren von Pankreassekret keinen Einfluß auf das Wachstum von Klebsiella pneumonia.

Um die Frage zu klären, ob Pankreassekret nur Mangelmedium ist, oder ob es Hemmstoffe enthält, wurde das Keimwachstum in Bouillon-Pankreasgemisch der Charge P2 mit dem in Bouillon verglichen. Es stellte sich heraus, daß E.Coli in Bouillon-Pankreasgemisch eine geringere Trübungszunahme erzielt als in Bouillon alleine; somit sind zumindest für E.Coli auch in dieser Charge ( P2 ) Hemmstoffe anzunehmen.
Für Klebsiella pneumonia finden sich keine deutlichen Wachstumsunterschiede in beiden Proben.

Die Betalactam-Antibiotika Ampicillin, Mezlocillin und Cefoxitin weisen nur geringe Wirkungsunterschiede in Bouillon und Pankreassekret gegenüber E.Coli auf; dabei finden sich sowohl Wirkungssteigerungen als auch Wirkungsverluste.
Bei Klebsiella pneumonia registriert man starke Aktivitätsunterschiede in beiden Medien. Während Mezlocillin offensichtlich nur in Pankreassekret wirkt, hat Cefoxitin einen deutlichen Wirkungsverlust in dieser Körperflüssigkeit.

Als einziges Betalactam-Antibiotikum zeigt Cefotaxim einen generellen Wirkungsverlust gegenüber beiden Keimen in Pankreassekret.
Interessant ist, daß in den Pankreassekretchargen P2 und P3 ohne Zusatz von Antibiotika die keimtötende Wirkung auf E.Coli größer ist als in den gleichen Chargen mit 10 mcg/ml Ampicillin bzw. 10 mcg/ml Cefotaxim.

Im Gegensatz zu den Betalactam-Antibiotika bewirkt Gentamycin, das einzige untersuchte Aminoglycosid-Antibiotikum, in Pankreassekret der Charge P3 eine Steigerung der Keimabtötung von E.Coli in dieser Charge.

Gegenüber Klebsiella pneumonia zeigt es eine deutliche Aktivitätsminderung in Pankreassekret.

Die vorliegende Untersuchung zeigt, daß Pankreassekret, wie auch z.B. Liquor und Speichel, ein schlechtes Medium für fakultativ pathogene Keime ist. Dies ist möglicherweise eine Erklärung für das seltene Vorkommen von primären bakteriellen Infektionen in diesem Organ. Bei bestimmten klinischen Konstellationen, wie z.B. Infektionen nach Operationen oder endoskopischen Eingriffen an diesem Organ, sind Antibiotika indiziert.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß die untersuchten Substanzen in ihrer Aktivität nicht nennenswert beeinflußt werden.

## 6. Literaturverzeichnis


1. Axon, A.T.; Banks, J.; Cockel, R.; Deverill, C.E.A.; Newmann, C.: Disinfektion in upper-digestive-tract endoscopy in Britanin.
   The Lancet, May 16 (1981) 1093-1094
2. Bartsch, H.J.: Mathematische Formeln
   Fachbuch Verlag Leipzig (1971) 457
3. Bilbao, M.K.; Dotter, C.T.; Lee, T.G.; Katon, R.M.: Complications of endoscopic retrograde cholangio-pancreatography (ERCP) A study of 10,000 cases.
   Gastroenterology 70 (1976) 314-320
4. Bro-Rasmussen, F.; Killmann, S.-A.; Thaysen, J.H.: The composition of pancreatic juice as compared to sweat, parotid saliva and tears.
   Acta physiologica scandinavica 37 (1956) 97-113
5. Büldt, S.: Die chronische Pankreatitis: Krankengut der Med. Universitätsklinik Tübingen von 1960 - 1971.
   Dissertation, Tübingen (1978)
6. Classen, M.; Wurbs, D.; Mairose, U.: Duodenoskopie, retrograde Cholangio-Pankreatographie. in Otterjann, R.; Classen, M. (Hrsg.): Gastroenterologische Endoskopie
   Enke Verlag, Stuttgart (1979) 73-103
7. Ducumenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen.
   J.R. Geigy (Hrsg.) 7. Auflage (1977) 647-649
8. Elson, C.O.; Hattori, K.; Blackstone, M.O.: Polymicrobial sepsis following endoscopic retrograde cholangio-pancreatography.
   Gastroenterology 69 (1975) 507-510
9. Garrod, L.P.; Waterwoth, P.M. : Effect of medium compositivity of Pseudomonas aeruginosa to gentamycin.
   J. clin. Path. 22 (1969) 534-538

10. Geschwändler-Töller, B.: Kinetik der Bakterizidie von Antibiotika in Fruchtwasser gegenüber fakultativ pathogenen Erregern.
Dissertation, Frankfurt a.M. (1979)
11. Gilbert, D.N.; Kutscher, E.; Ireland, P.; Barnett, J.A. : Effect of the concentrations of magnesium and calcium on the in-vitro-susceptibility of Pseudomonas aeruginosa to Gentamicin.
The J. of Inf. Diseases, Vol 124/Dez. (1971) 37-45
12. Gisevius, H.-J.: Die akuten Pankreatiden: Krankengut der Med. Universitätsklinik Tübingen 1960-1971
Dissertation, Tübingen (1979)
13. Glotzer, D.J. : Prophylactic antibiotics in pancreatitis.
Gastroenterology 70 (1976) 291-294
14. Gregg, J.A.: Detection of bacterial infection of the pancreatic ducts in patients with pancreatitis and pancreatic cancer during endoscopic cannulation of the pancreatic duct.
Gastroenteroloy 73 (1977) 1005-1007
15. Griffiths, D.A.; Simpson, R.A.; Shorey, B.A.; Speller, D.C.E.: Singel-dose preoperative antibiotic prophylaxis in gastrointestinal surgery.
The Lancet (1976) 325-328
16. Gross, R.; Schölmerich, P. : Lehrbuch der Inneren Medizin
Schattauer Verlag, Stuttgart (1977) 5. Auflage 563
17. Hameister, W.; Wahlig, H.: Der Einfluß von $Mg^{++}$ und $Ca^{++}$ auf die Wirksamkeit von Gentamycin gegen Pseudomonas aeruginosa im Agardiffusionstest.
Arzneimittelforschung (Drug. Res.) Jahrg. 21/Nr.2 (1971) 1658-1660
18. Helm, E.B. : Antibakterielle Aktivität von Antibiotika in Körperflüssigkeiten.
Habilitationsschrift, Neuss (1977)

19. Helm, E.B.; Paulus, I.; Shah, P.M.; Stille, W. : Antibakterielle Aktivität von Antibiotika in menschlicher Galle.
Infection 4 (1976) 94-101
20. Helm, E.B.; Stille, W.: Bakteriologische Befunde bei Gallenwegserkrankungen, in Demling, L.; Riemann, J.F. (Hrsg.): Endoskopische Protetik
Verlag Ludwig Heumann & Co, Nürnberg (1982) 67-73
21. Helm, E.B.; Stille, W.: Resistenzbestimmung von Antibiotika in Körperflüssigkeiten.
Immunität und Infektion 6 (1978) 217-222
22. Hessel, F.: Ätiologie, Verlauf und Prognose der akuten Pankreatitis.
Dissertation, Erlangen/Nürnberg 1978
23. Hoffmann, L.; Wurbs, D.; Lange, G.; Müller, G.; Spender, H.; Classen, M.: Methode und Ergebnisse der Gewinnung reinen Pankreassekrets beim Menschen in : Bartelheimer, H.; Classen, M.; Ossenberg, F.-W. : Die Untersuchung der Bauchspeicheldrüse.
Thieme Verlag, Stuttgart (1976) 79-82
24. Jawetz, E.; Melnick, J.L.; Adelberg, E.A. : Medizinische Mikrobiologie.
Springer, Berlin (1980) 5.Auflage 98-102
25. Keighley, M.R.; Drysdale, R.B.; Quoraishi, A.H.; Burdon, D.W.; Alexander-Williams, J.: Antibiotics in biliary disease: the relative importance of antibiotic concentration in bile and serum.
Gut 17 (7) (1976) 495-500
26. Keighly, M.R.; Lister, D.M.; Jacobs, S.J.; Giles, G.R.: Harzards of surgical treatment due to microorganisme in the bile.
Surgery 75 (1974) 578

27. Koch, H.: Komplikationen der ERCP und deren Verhütung.
in : Demling, L.; Koch, H.; Rösch, W. (Hrsg.): ERCP
Schattauer Verlag, Stuttgart (1979) 25-30
28. Koch, H.; Schaffner, O.: Technik der ERCP.
in: Demling, L.; Koch, H.; Rösch, W. (Hrsg.): ERCP
Schattauer Verlag, Stuttgart (1979) 24
29. Kunze, M.; Klingenfeld, U.; Bosseckert, H. u.a. :
Bakteriologische Befunde bei der endoskopischen retrograden Cholangiopankreatographie (ERCP).
Dt. Gesundh.-Wesen 36 Heft 32 (1981) 1330-1332
30. Luther, K.: Antibakterielle Aktivität in Plasmawasser.
Dissertation, Frankfurt a.M. (1976)
31. Näveke, R.; Trepper, K.-P. : Einführung in die mikrobiologischen Arbeitsmethoden.
Fischer Verlag, Stuttgart (1979) 94
32. Nedden, R. : Gentamycin - Refobacin Eigenschaften und therapeutische Erfahrungen.
scripta medica merck 12 (1975) 18-19
33. Nichols, R. L.; Watts, R. W.; James, W. J. u.a. :
Efficacy of antibiotik prophylaxis in high risk gastroduodenal operations.
The American Journal of Surgery Jan. 143 (1982) 94-98
34. O'Connor, B. H.; Bennett, J. R.; Sutton, D. R. :
Samonellosis infection transmitted by fibreoptic endoscopes.
The Lancet, Oct. 16 (1982) 864-866
35. Pfaff, R.: Antibakterielle Aktivität in Speichel gegenüber fakultativ pathogenen Keimen.
Dissertation, Frankfurt a.M. (1975)
36. Pichelmayr, R.; Grotelüschen, B. : Chirugische Therapie.
Springer Verlag, Berlin (1978) 307-344

37. Plocke, G. : Untersuchungen über das Wachstum von Mikroorganismen im Urin.
Dissertation, Frankfurt a.M. (1976)

38. Soehendra, N.; Farthmann, E.; Werner, B.: Endoskopisch retrograde Pankreatikographie. in: Bartelheimer, H.; Classen, M.; Ossenberg, F.-W. (Hrsg.): Die Untersuchung der Bauchspeicheldrüse.
Thieme Verlag,Stuttgart (1976) 102-113

39. Shah, P. M.; Schirmer, K. P.; Helm, E. B.; Stille, W.: Untersuchungen zur antibakteriellen Aktivität von Penicillinen und Cephalosporinen in Urin.
Arzneimittel-Forschung (Drug Res.) 26/9 (1976) 1636-1638

40. Stille, W.; Helm, E. B.; Walden, H. : Activity of antibacterial combinations in body fluids.
Infection 6 (1978) 72-74

41. Stone, H. H.; Hooper, C. A.; Kolb, L. D.; Geheber, C. E.; Dalakeris, E. J.: Antibiotic prophylaxis in gastric, biliary and colonic surgery.
Ann Surg 184 (1976) 443

42. Trefz, S.: Kinetik der Bakterizidie von Antibiotika in Galle gegenüber fakultativ pathogenen Erregern.
Dissertation, Frankfurt a.M. (1978)

43. Wacha, H.; Helm, E. B.: Efficacy of antibiotics in bacteriobilia.
J. of Antimicrobial Chemotherapy 9 (1982) 131-137

44. Waterworth, P. M.: The in-vitro activity of tobramycin compared with that of other aminoglycosides.
J. clin. Path. 25 (1972) 979-983

45. Winship, D. (Moderator): Pancreatitis: Pancreatic pseudocysts and their complications.
Gastroenterology 73 (1977) 596-603

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

" Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen und Bakterizidiekinetik von Antibiotika in Pankreassekret"

im Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main, unter Leitung von Frau Priv.-Doz. E.B. Helm ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 21.12.1982

Maria M. Schmitt

Tabellarischer Lebenslauf

Maria Melita Schmitt
F.-W.-v.-Steuben-Str. 90
6000 Frankfurt 90

Geboren am 6.9.1953 in Dernbach Westerwaldkreis
Eltern: Agnes Schmitt geb. Menges
Josef Schmitt ( Bau-Ing. )

| | | |
|---|---|---|
| Schulen | | |
| Volksschule | 1961-1969 | in Rothenbach/Langenhahn Wersterwald<br>Hauptschulabschluß 1969 |
| Berufsfachschule | 1969-1971 | hauswirtschaftlich-pflegerische<br>Fachrichtung in Wiesbaden<br>Fachgebundene Mittlere Reife 1971 |
| Berufsausbildung | 1969-1972 | zur Kinderpflegerin in Wiesbaden<br>Abschluß Juli 1972 |
| Schule | | |
| Hessenkolleg | 1972-1974 | in Wiesbaden<br>Abitur am 5.12.1974 |
| Hochschulbesuch | 1975-1982 | an der Johann Wolfgang Goethe-Universität<br>Frankfurt am Main<br>April 1975 Biologie<br>ab Oktober 1975 Humanmedizin |
| Examen | 27.4.1982 | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |

Approbation als Ärztin wurde am 8.7.1982 erteilt.

Frankfurt, den 21.12.1982

Maria M. Schmitt